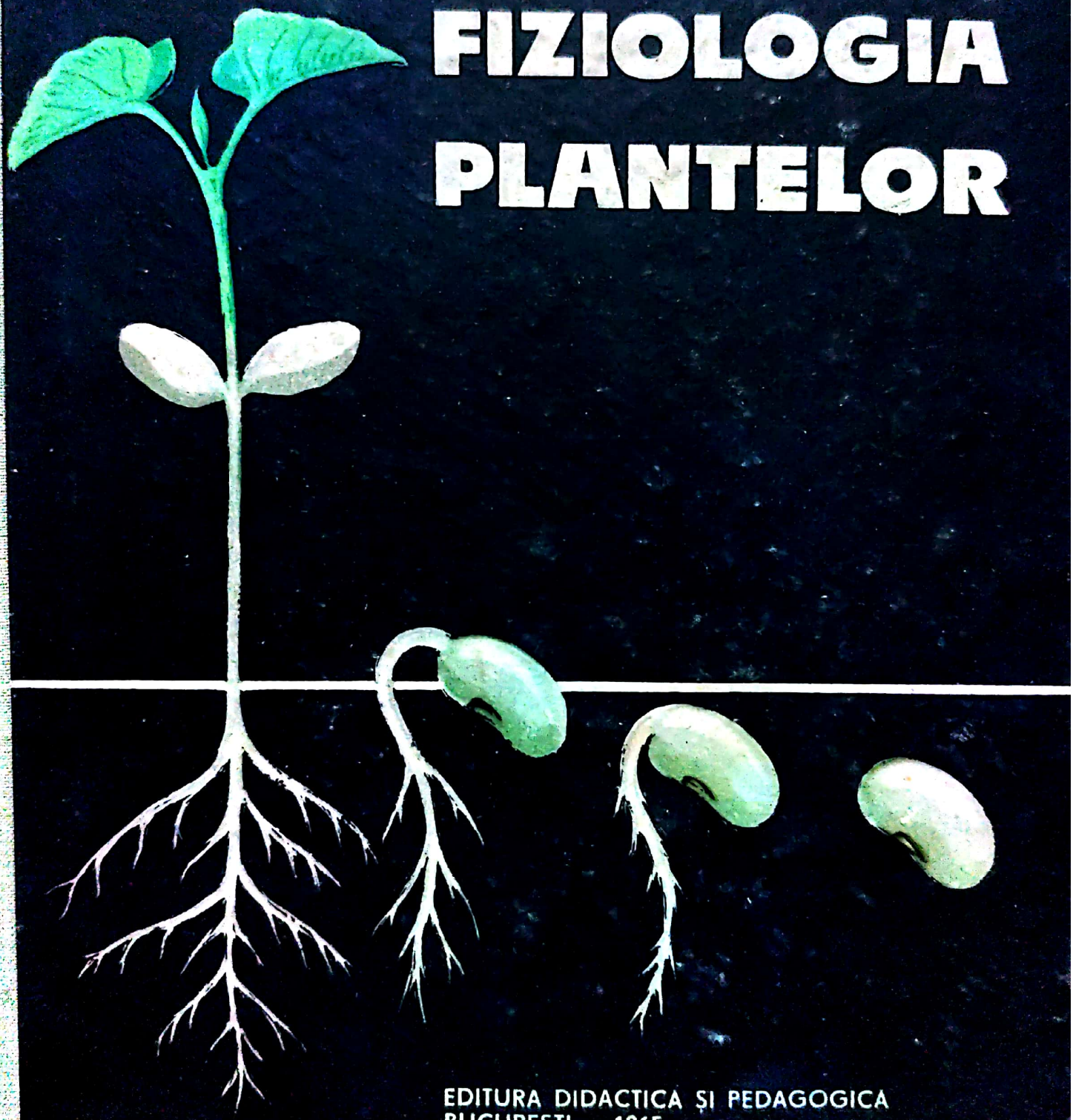
LUCRĂRI PRACTICE DE FIZIOLOGIA PLANTELOR



EDITURA DIDACTICĂ ȘI PEDAGOGICĂ
BUCUREȘTI – 1965

Scanned with OKEN Scanner

MINISTERUL ÎNVĂȚĂMÎNTULUI

LUCRĂRI PRACTICE DE FIZIOLOGIA PLANTELOR

EDITURA DIDACTICĂ ȘI PEDAGOGICĂ, BUCUREȘTI – 1965

Scanned with OKEN Scanner

Autori:

Conf. univ. dr. EMILIA CUPCEA, Institutul pedagogic de 3 ani — Cluj.

Conf. univ. dr. EMILIA ILIESCU, Universitatea-București.

Șef de lucrări OCTAV BOLDOR, candidat în științe biologice, Universitatea-București.

Lector dr. EDIT BRUGOVITZKY, Universitatea „Babeș—Bolyai"-Cluj.

Șef de lucrări VASILE D. PETREA, candidat în științe biologice, Universitatea-București.

Lector NICOLAE POPOVICI, Universitatea „Al. I. Cuza"-Iași.

Lector FLORICA SOARE, Universitatea „Al. I. Cuza"-Iași.

Scanned with OKEN Scanner

PREFAȚĂ

Scopul manualului pentru lucrări practice de fiziologia plantelor este acela de a contribui la buna pregătire a studenților facultăților de biologie ale universităților. El aduce reale înlesniri și studenților facultăților de științe naturale, ai institutelor agronomice și facultății de silvicultură. De asemenea, va fi consultat cu folos de profesorii din învățământul mediu, de inginerii agronomi și silvici și de cercetătorii care se ocupă direct sau indirect de fenomene în legătură cu viața plantelor.

Manualul de lucrări practice de fiziologia plantelor reprezintă o completare a manualelor de fiziologia plantelor, apărute la noi. Scris de un colectiv de conferențiari și șefi de lucrări de la laboratoarele de fiziologie vegetală ale facultăților de biologie ale universităților din București, Cluj și Iași, el cuprinde lucrările clasice efectuate de studenții care urmează cursul de fiziologia plantelor. Unele lucrări practice descrise în manual pot fi efectuate ca demonstrații la curs sau la prelegerile din învățământul mediu. Cele mai multe lucrări pot fi efectuate de studenți, iar unele și de elevii învățământului mediu. Autorii au avut grijă să aleagă experiențe simple, ușor de efectuat și convingătoare, din diferite domenii ale fiziologiei vegetale, cunoscut fiind faptul că experiențele efectuate de studenți le ușurează mult înțelegerea materiei predate la curs și le dezvoltă totodată interesul, îndemînarea și tenacitatea pentru experimentare.

Alături de experiențe care servesc la punerea în evidență a fenomenelor vieții plantelor, autorii descriu și metode de determinare cantitativă a intensității lor. Sînt descrise numeroase metode de cercetare de laborator, dar nu s-a neglijat nici descrierea unor metode de cercetare în cîmp. Acestea din urmă sînt mai numeroase la capitolele referitoare la nutriția minerală a plantelor, regimul de apă și creșterea și dezvoltarea plantelor.

Manualul cuprinde și descrierea unor metode elaborate de cercetători din țara noastră.

Un ajutor în munca studenților îl reprezintă și cele 46 tabele și numeroasele rețete pentru pregătirea reactivilor necesari tuturor lucrărilor.

Prezentul manual a fost elaborat de persoane cu îndelungată activitate în îndrumarea și conducerea lucrărilor practice ale studenților și în cercetarea științifică. Autorii au verificat personal și cu studenții, de numeroase ori, lucrările practice descrise. La redactarea și coordonarea materialului s-a făcut un schimb de experiență valoros între diferitele

Scanned with OKEN Scanner

laboratoare de fiziologia plantelor ale facultăților de biologie și s-a unificat nomenclatura.

Cum este de prevăzut, în viitorul apropiat vor apărea noi ediții ale manualului de lucrări practice de fiziologie vegetală. Exprim dorința autorilor să le fie sesizate diferite lipsuri, urmînd a face cuvenitele rectificări.

Acad. prof. dr. N. SĂLĂGEANU

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul I

FENOMENE FIZICO-CHIMICE ŞI FIZIOLOGICE LEGATE DE METABOLISMUL CELULAR

de lector **FLORICA SOARE**

A. STUDIUL EXPERIMENTAL AL SOLUŢIILOR COLOIDALE

Sistemele disperse sînt amestecuri bifazice, microheterogene de substanţe la care se distinge o fază continuă, mediu dispersant, şi o fază discontinuă, mediu dispersat. După mărimea particulelor fazei discontinui, gradul de dispersie, sistemele disperse se clasifică astfel:

a) dispersii moleculare, la care faza discontinuă se găseşte sub formă moleculară sau ionică şi mărimea particulelor nu depăşeşte 0,001 microni; aceste sisteme sînt omogene şi cuprind soluţiile adevărate;

b) dispersii coloidale, la care mărimea particulelor fazei discontinui este cuprinsă între 0,001 şi 0,1 microni;

c) dispersii grosiere, la care mărimea particulelor depăşeşte 0,1 microni.

Dispersii coloidale. În dispersiile coloidale, mediul dispersant este totdeauna lichid. Dacă mediul dispersat este gaz, dispersia se numeşte spumă, dacă mediul dispersat este lichid, dispersia se numeşte emulsie, iar dacă este solid, dispersia se numeşte suspensie coloidală sau soluţie coloidală.

Dintre dispersiile coloidale, pentru fiziologia plantelor au importanţă soluţiile coloidale, întrucît cea mai mare parte a corpului plantelor este constituită din coloizi. Microheterogenitatea protoplasmei este cea mai generală caracteristică a organismelor vii şi cel mai important factor în desfăşurarea normală a întregului metabolism celular. Trebuie menţionat că biocoloizii plasmatici reprezintă soluţii adevărate de substanţe macromoleculare, cum sînt proteinele plasmatice, hidraţii de carbon complecşi şi fermenţii. Aceşti compuşi, datorită dimensiunilor moleculare mari în raport cu ale mediului dispersant (apa), se comportă de asemenea ca sisteme coloidale microheterogene, cu suprafeţe active foarte mari, la nivelul cărora au loc fenomene electrostatice, de adsorbţie, de osmoză etc., datorită cărora reacţiile chimice decurg deosebit decît in vitro. De aceea, pentru explicarea fenomenelor fizico-chimice ale protoplasmei, este necesar studiul coloizilor în general, deoarece, prin gradul de dispersie şi fenomenele de suprafaţă, aceştia se apropie de plasma vie. Particulele coloidale atrag la suprafaţa lor o cantitate din moleculele mediului dispersant. Acest fenomen poartă numele de solvatare, iar cînd mediul dispersant este apa, se numeşte hidratare. După capacitatea de hidratare, se deosebesc *coloizi hidrofili*, care fixează puternic o mare cantitate de apă, şi coloizi hidrofobi, care fixează slab sau de loc apa. Biocoloizii plasmatici au proprietăţi hidrofile foarte pronunţate. În jurul micelelor coloidale se grupează dipoli de apă reţinuţi cu putere şi orientaţi radiar — strat orientat. Urmează un strat de dipoli de apă mai slab reţinuţi şi neorientaţi — stratul difuz. Pe lîngă aceasta, la suprafaţa de contact a particulelor coloidale cu solventul (apa), se formează un strat electric dublu de ioni negativi, adsorbiţi de particule şi ioni pozitivi menţinuţi în echilibru de ioni negativi. Ansamblul constituit din particulă, strat de apă şi ionii reţinuţi constituie micela coloidală. Mărimea încărcăturii electrice a ionilor adsorbiţi se poate schimba în funcţie de prezenţa şi concentraţia diferiţilor electroliţi în mediul dispersant. Dacă în mediul dispersant există ioni pozitivi care se pot adsorbi, la un moment dat, sarcina negativă a ionilor adsorbiţi este neutralizată. Acest moment se numeşte punctul izoelectric al soluţiei coloidale. Întrucît încărcătura electrică provoacă

respingerea micelelor coloidale, menținînd stabilitatea soluției, la punctul izoelectric stabilitatea dispare și coloidul precipită. Dacă adsorbția de ioni din mediu continuă, micelele se încarcă cu electricitate de sens contrar și se reface stabilitatea coloidului.

Experiența nr. 1

PREPARAREA SOLULUI (SOLUȚIEI COLOIDALE) DE AgI

Se prepară soluții 0,01 *n* de $AgNO_3$ și KI (reactivii 13 *b* și 45 *b*). În 4 eprubete se pun cîte 10 ml din soluția de KI. Se adaugă în fiecare eprubetă, respectiv, 7, 8, 9 și 10 ml soluție de $AgNO_3$. Se lasă eprubetele în repaus, urmărindu-se stabilitatea suspensiei coloidale formate. Stabilitatea suspensiei crește proporțional cu excesul unuia dintre reactivi. Aceasta se explică prin adsorbția de către micelele coloidale a ionilor cu aceeași încărcătură electrică, ceea ce mărește puterea de respingere între micele, împiedicînd depunerea suspensiei. În eprubeta unde soluțiile sînt puse în cantități egale, se ajunge la punctul izoelectric și coloidul precipită și se depune imediat. În celelalte eprubete, stabilitatea coloidului se păstrează timp îndelungat.

Tot astfel se explică stabilitatea ridicată a coloizilor plasmatici, prin adsorbția de către macromolecule a ionilor cu aceeași sarcină din electroliții conținuți în celulă. În experiența de față avem o suspensie coloidală de natură minerală, fapt care infirmă teoria lui Graham asupra capacității exclusive a substanțelor organice de a forma suspensii coloidale.

Experiența nr. 2

PREPARAREA ȘI PRECIPITAREA SOLULUI DE COLOFONIU

Într-o eprubetă cu apă, sub agitare, se adaugă cîteva picături dintr-o soluție 2% de colofoniu în alcool etilic concentrat. Se obține un sol transparent și opalescent, puternic liofob, de colofoniu în apă. Micelele de colofoniu sînt încărcate cu electricitate negativă. Alcoolul introdus ca solvent pentru colofoniu are o influență negativă asupra stabilității coloidului. Pentru menținerea stabilității timp îndelungat, alcoolul trebuie îndepărtat prin dializă.

Precipitarea solului de colofoniu se face în modul următor: se adaugă cîteva picături de soluție (10%) de alaun [$AlK(SO_4)_2$]. După puțin timp, solul precipită și se depune. Micelele coloidale de colofoniu încărcate negativ adsorb cationii de Al^{+++} și K^+, sarcina lor se neutralizează, micelele se aglomerează și se depun.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 3

DIALIZA

Dializa este un procedeu de purificare a coloizilor de electroliţi, cu ajutorul unei membrane permeabile, prin care pot difuza electroliţii. Un dializor constă dintr-o membrană care separă solul coloidal de apa ce antrenează electroliţii. Cel mai simplu dializor constă dintr-o pungă de celofan ataşată la un tub de sticlă, ca în figura 1. Se pregăteşte un clei de amidon 5% (reactivul 20 *a*) şi o soluţie 1% $NaNO_3$. Se amestecă 3 părţi din solul de amidon cu o parte soluţie $NaNO_3$ şi se toarnă în dializor o cantitate oarecare. Înainte de montarea experienţei, asupra amestecului din dializor se fac probe pentru evidenţierea amidonului şi azotatului. Pentru amidon se ia într-o eprubetă amestec de dializat şi se pun cîteva picături de soluţie Lugol (reactivul 64). Apare o coloraţie albastră. Pentru evidenţierea azotatului se pune pe o placă de faianţă o picătură de amestec şi peste ea o picătură de difenilamină în acid sulfuric concentrat (reactivul 32). Apare o coloraţie albastră. Dializorul se introduce într-un vas mai mare cu apă curgătoare şi totul se aşază în cuvetă, astfel ca nivelul soluţiei ce dializează să fie cu cîţiva milimetri deasupra nivelului apei. Se dă drumul la un curent constant de apă de robinet. Menţinerea nivelului constant al apei în vasul extern se realizează cu un sifon automat, aşa cum se vede în figura 2. Dializa se consideră terminată atunci cînd proba luată din dializor nu mai dă reacţie cu difenilamina.

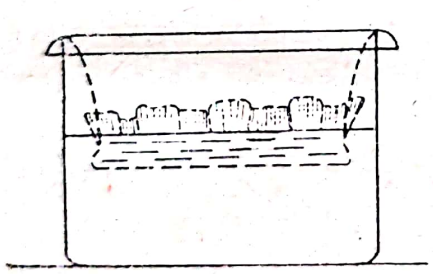


Fig. 1. Dializor.

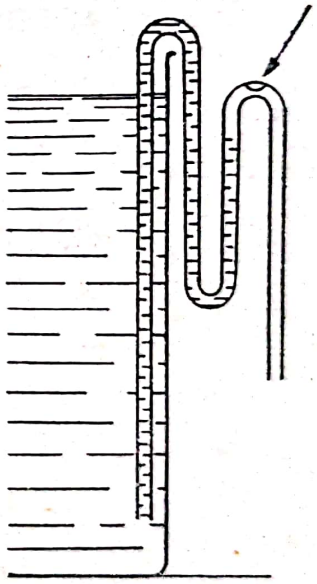


Fig. 2. Sifon pentru dializor.

Experienţa nr. 4

COACERVAREA

Fenomenul de stratificare a hidrosolului în două faze lichide a fost denumit coacervare (H. Bungenberg de Jong, 1936). Spre deosebire de coagulare, la coacervare faza dispersată nu se eliberează total de faza dispersantă, ci are loc numai o apropiere relativă a particulelor

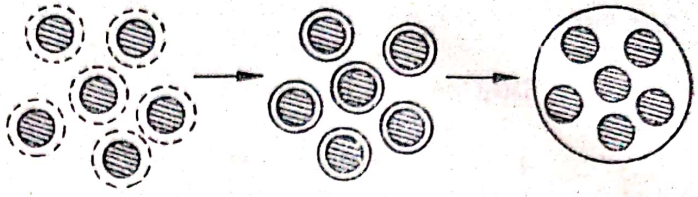


Fig. 3. Fazele procesului de coacervare.

coloidale. Faza care se concentrează pe fund este un lichid îmbogățit în substanță coloidală (coacervatul), în timp ce faza de deasupra, apa, sărăcește aproape total în micele coloidale. Coacervatul este net separat de restul soluției (lichid de echilibru), cu care nu se amestecă. Micelele pierd stratul de apă difuz, iar stratul orientat al cîtorva micele se contopește, incluzîndu-le. Stratul difuz va forma faza superioară, limpede (fig. 3). Se pregătește un clei de amidon 5% (reactivul 20 *a*) și după răcire se adaugă 1—2 picături de toluen, pentru a împiedica hidroliza amidonului de către bacterii. Lăsînd să stea liniștit timp de cîteva zile, se constată separarea a două straturi: un strat inferior dens, constituind coacervatul de amidon, și un strat superior format din solvent aproape pur — apa.

B. ADSORBȚIA

Creșterea concentrației unei substanțe la interfața a două faze se numește adsorbție. Aceasta apare sub influența diferenței de intensitate a forțelor care se exercită între particulele fazelor ce formează interfața. De exemplu, în adsorbția gazelor pe cărbune, interfața se formează între cărbune ca material adsorbant și aer. În adsorbția coloranților solviți în apă, interfața se formează între suprafața materialului adsorbant și apă. Natura acestor forțe variază de la forțe slabe de natură fizică care provoacă o adsorbție slabă, adsorbție fizică, pînă la forțe care prin intensitate se apropie de legătura chimică — chimiosorbție. Adsorbția este cu atît mai mare cu cît suprafața materialului adsorbant este mai mare (dimensiunile particulelor mai mici). Puterea de adsorbție a diferitelor materii față de o substanță determinată este foarte variabilă și specifică. Există o scară ascendentă a capacității substanțelor de a se adsorbi. Treptele inferioare le ocupă substanțele minerale cu moleculă mică, urmează sărurile complexe ale metalelor grele, substanțele organice din seria grasă și aromatică, iar treptele superioare sînt ocupate de coloranții organici, care ca urmare a ponderii lor moleculare mari se adsorb cel mai puternic. Adsorbția mai depinde și de încărcarea electrică atît a particulei de adsorbant cît și a moleculelor substanțelor adsorbite. Ca medii adsorbante se pot folosi: praful de cărbune, diferite soluri fin pulverizate, precum și geluri coloidale, cum este hîrtia de filtru.

Experiența nr. 5

ADSORBȚIA $Pb(NO_3)_2$ PE PRAFUL DE CĂRBUNE

Într-o eprubetă se iau cîțiva mililitri de soluție $Pb(NO_3)_2$ 0,07%, peste care se toarnă cîțiva mililitri de $K_2Cr_2O_7$ între 2 și 5%. Se obține un precipitat galben de $PbCr_2O_7$. Într-o altă eprubetă se ia soluție de $Pb(NO_3)_2$ de aceeași concentrație și se adaugă un vîrf de briceag de negru animal. Se agită cîteva minute, apoi se filtrează. În filtratul obținut se face proba cu $K_2Cr_2O_7$. Reacția este negativă, deoarece $Pb(NO_3)_2$ a fost fixat adsorbtiv pe suprafața particulelor de cărbune.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 6

ADSORBȚIA VIOLETULUI DE METIL DE CĂTRE SOL

Se folosește un tub de sticlă îngustat la partea inferioară, care se umple pînă la jumătate cu sol fin (fig. 4). Deasupra se toarnă o soluție diluată (1/10 000) de violet de metil. În vasul de culegere se va scurge un filtrat complet decolorat. În cazul de față, violetul de metil s-a adsorbit total de către sol.

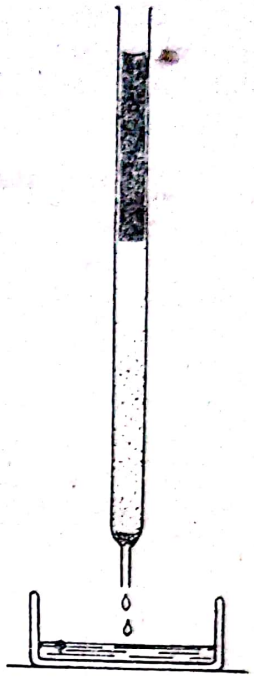


Fig. 4. Adsorbția violetului de metil de către sol.

Experiența nr. 7

ADSORBȚIA ALBASTRULUI DE METILEN ȘI A EOZINEI DE CĂTRE GELURILE COLOIDALE

Capacitatea deosebită de adsorbție a diferitelor substanțe se poate demonstra prin adsorbția albastrului de metilen și a eozinei pe hîrtia de filtru, care este un gel coloidal de celuloză, ale cărui micele sînt încărcate cu electricitate negativă. Se iau 3 eprubete perfect uscate. Cu pipeta se introduce în fundul primei eprubete 1 ml de albastru de metilen 0,1 %, în a doua eprubetă 1 ml de eozină de aceeași concentrație și în a treia eprubetă 1 ml de amestec în părți egale de albastru de metilen și eozină în concentrațiile menționate. În fiecare eprubetă se introduce cîte o fîșie de hîrtie de filtru 1/20 cm, așa ca să intre cu un capăt în lichid. După 2—3 ore se observă următorul aspect. În toate eprubetele apa s-a urcat prin capilaritate pînă la o anumită înălțime. În prima eprubetă, albastrul de metilen, fiind un colorant bazic (electropozitiv), se adsoarbe puternic la baza hîrtiei de filtru. În eprubeta a doua, eozina, colorant acid (electronegativ), care nu poate fi adsorbită de micelele coloidale ale hîrtiei de filtru, urcă aproape la același nivel cu apa. În eprubeta cu amestec se observă separarea coloranților conform proprietăților lor adsorbtive. Pe fîșia de hîrtie de filtru albastrul de metilen rămîne adsorbit la baza hîrtiei, iar eozina urcă împreună cu apa.

Experiența nr. 8

ADSORBȚIA ȘI ELUȚIUNEA

Substanțele fixate adsorbtiv pot fi reluate de pe suprafața materialului adsorbant, folosind solvenți convenabili. Acest fenomen invers adsorbției se numește eluțiune. Se iau într-o eprubetă cîțiva mililitri de soluție de fuxină acidă 1/10 000 peste care se pune un vîrf de briceag de negru animal. Se agită eprubeta cîteva minute, apoi se filtrează. Filtratul obținut va fi incolor. Pe hîrtia de filtru vor rămîne

particulele de cărbune pe suprafaţa cărora s-a adsorbit fuxina. Se toarnă în pîlnie, peste hîrtia de filtru cu cărbune, alcool etilic 95% (reactivul 10 *a*). Acesta eluţionează fuxina, iar filtratul va fi colorat în roşu.

C. IMBIBIŢIA

Capacitatea coloizilor macromoleculari de a absorbi lichid cu mărire de volum se numeşte imbibiţie. Fenomenul de imbibiţie trebuie deosebit de îmbibarea obişnuită cu lichid a unui corp poros sau sub formă de pulbere, care nu duce la schimbarea volumului acestor corpuri. În imbibiţie, viteza de difuziune a moleculelor de lichid fiind mai mare, ele pătrund şi se repartizează printre macromolecule mai repede decît acestea printre moleculele lichidului. Pătrunderea lichidului determină îndepărtarea macromoleculelor între ele, iar volumul coloidului creşte, corpul se îmbibă. Se cunosc două tipuri de imbibiţie: imbibiţie nelimitată, cînd coloidul macromolecular trece total în soluţie, şi imbibiţie limitată, cînd corpul îmbibat rămîne în stare de gel, păstrînd forma iniţială. Adesea o mică creştere a temperaturii este suficientă pentru ca imbibiţia să treacă din limitată în nelimitată. De exemplu, gelatina sub 22°C se îmbibă limitat, iar peste această temperatură imbibiţia devine nelimitată. Imbibiţia depinde de forma moleculelor coloidului ce se îmbibă şi de orientarea lor. Cînd moleculele fibrilare sînt aşezate în dezordine, corpul îşi măreşte volumul, păstrînd forma iniţială. Dacă macromoleculele sînt orientate paralel între ele, imbibiţia are loc mai mult perpendicular pe sensul orientării lor. Imbibiţia este un fenomen selectiv, deoarece coloizii se îmbibă îndeosebi cu lichidele în care se pot dizolva. Imbibiţia mai este influenţată şi de prezenţa electroliţilor în soluţia care îmbibă.

În imbibiţie se observă următoarele fenomene caracteristice: 1) creşterea volumului coloidului; 2) contracţia volumului total; dacă V reprezintă volumul coloidului uscat, V' — volumul lichidului care îmbibă, iar W — volumul coloidului îmbibat, atunci $W < V + V'$; 3) eliberare de energie mecanică; 4) eliberare de energie calorică.

Experienţa nr. 9

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A CARACTERISTICILOR IMBIBIŢIEI PRIN EXPERIENŢA COUPIN

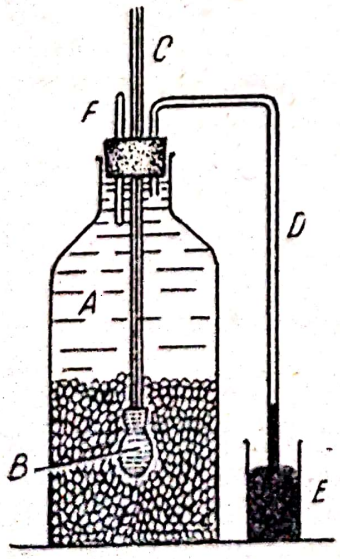


Fig. 5. Experienţa Coupin (explicaţia în text).

Se montează un dispozitiv ca în figura 5. În vasul *A* se pun seminţe de lupin cu testa perforată. Prin una din deschiderile dopului trece tubul de sticlă *C*, care este în legătură cu ampula de cauciuc *B* plină cu mercur. Prin altă deschidere a aceluiaşi dop trece tubul de sticlă *D* îndoit de două ori în unghi drept şi care este introdus cu un capăt în vasul *E*, de asemenea plin cu mercur. A treia deschidere a dopului serveşte la scoaterea aerului, care ar rămîne sub dop în timpul închiderii flaconului. Se umple vasul cu apă, la refuz. Se astupă cu dopul, iar aerul iese prin a treia deschidere. După evacuarea aerului, deschiderea se astupă cu bagheta de sticlă *F*. Bagheta se introduce în flacon atît ca apa dezlocuită de ea, plecînd prin tubul *D*, să ajungă la suprafaţa mercurului din vasul *E*. După un timp, se constată că seminţele se îmbibă, exercitînd între ele

o presiune care se va manifesta şi asupra ampulei *B*, făcînd ca mercurul să urce în tubul *C*. În acelaşi timp, mercurul începe să se urce şi în tubul *D*, ceea ce pune în evidenţă contracţia volumului total (aceasta este mai evidentă dacă se suprimă ampula *B*).

Experienţa nr. 10

EMISIUNEA DE ENERGIE ÎN FENOMENUL DE IMBIBIŢIE

a) *Energie calorică.* În procesul de imbibiţie se eliberează energie calorică. Pentru a demonstra aceasta, se execută următoarea experienţă. Se ia o cantitate oarecare de amidon, se ţine timp de 24 de ore la termostat la 100°C, apoi se trece într-un exsicator cu $CaCl_2$, pînă se răceşte la temperatura camerei. Din amidonul uscat se iau cîte 2—3 g şi se pun în două eprubete perfect uscate. În fiecare eprubetă se introduce cîte un termometru şi se pun fiecare în vase termoizolatoare. În una din eprubete se toarnă 5—6 picături de apă, cealaltă eprubetă servind de control. Se va constata că în eprubeta unde a avut loc imbibiţia amidonului cu apă, temperatura a urcat cu 2—3°C faţă de eprubeta de control. Această eliberare de căldură este consecinţa contractării apei de imbibiţie, deoarece energia cinetică a moleculelor de apă care formează stratul orientat va fi eliberată sub formă de energie calorică.

b) *Energie mecanică.* S-a constatat că în fenomenul de imbibiţie corpurile coloidale dezvoltă o energie mecanică ca rezultat al îndepărtării micelelor gelului uscat, prin pătrunderea moleculelor de apă între

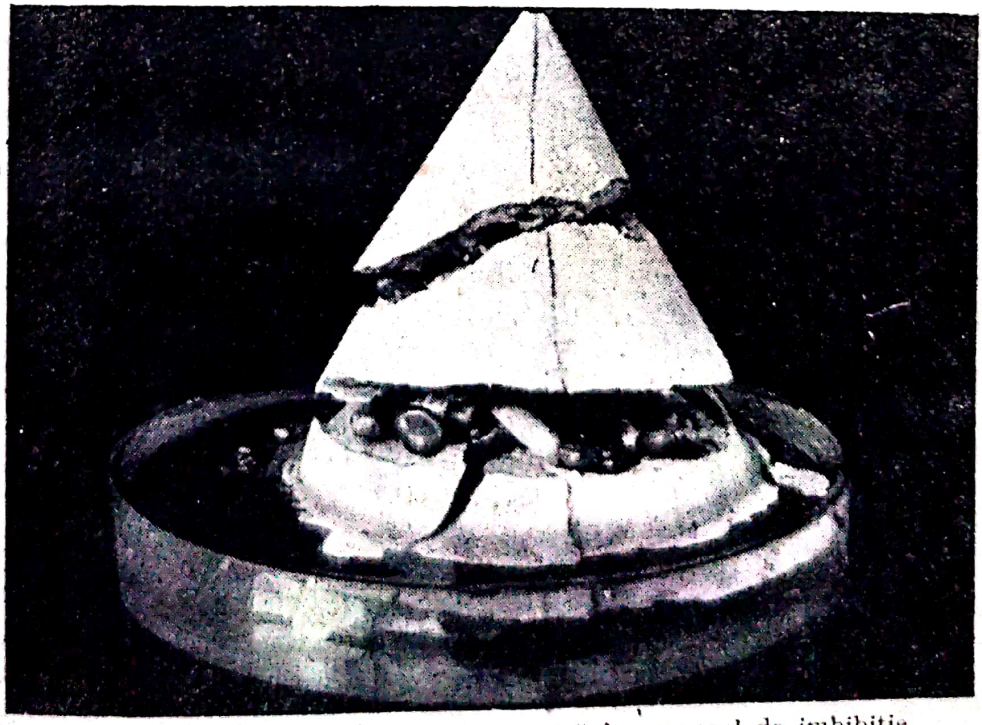


Fig. 6. Emisiunea de energie mecanică în procesul de imbibiţie.

micele. Eliberarea de energie mecanică este deosebit de puternică la imbibiția gelurilor coloidale elastice, de exemplu gelurile proteice din substanța de rezervă a semințelor de fasole. Se includ semințe uscate de fasole într-un con de gips în modul următor: într-o pîlnie de sticlă tapisată cu hîrtie umedă și fixată la suport, se toarnă o pastă de gips pînă la jumătate. Deasupra se pune un strat de semințe de fasole bine uscate și imediat se umple pîlnia cu pastă de gips. Conul cu semințele incluse, obținut după întărirea gipsului, se așază cu baza într-un cristalizor, pe fundul căruia se găsește un strat subțire de apă. După cîteva ore, apa ce intră prin capilaritate în conul de gips îmbibă semințele, care dezvoltă energie mecanică în măsură ce sfărîme blocul (fig. 6).

Experiența nr. 11.

IMBIBIȚIA ANIZOTROPĂ

a) *Imbibiția talului de Laminaria.* Se montează pe o lamă, într-o picătură de alcool absolut, o secțiune subțire de tal de *Laminaria* uscat. Se observă la microscop că țesutul este format din celule cu membranele uscate și lumenul îngustat. Dacă se adaugă o picătură de apă la marginea lamelei, absorbind de cealaltă parte cu hîrtie de filtru, se va înlocui alcoolul cu apa, iar țesutul se va îmbiba repede, mărindu-și volumul de 5—10 ori (fig. 7). Membranele celulelor talului de *Laminaria* sînt constituite din mucilagii pectocelulozice elastice, care se îmbibă puternic.

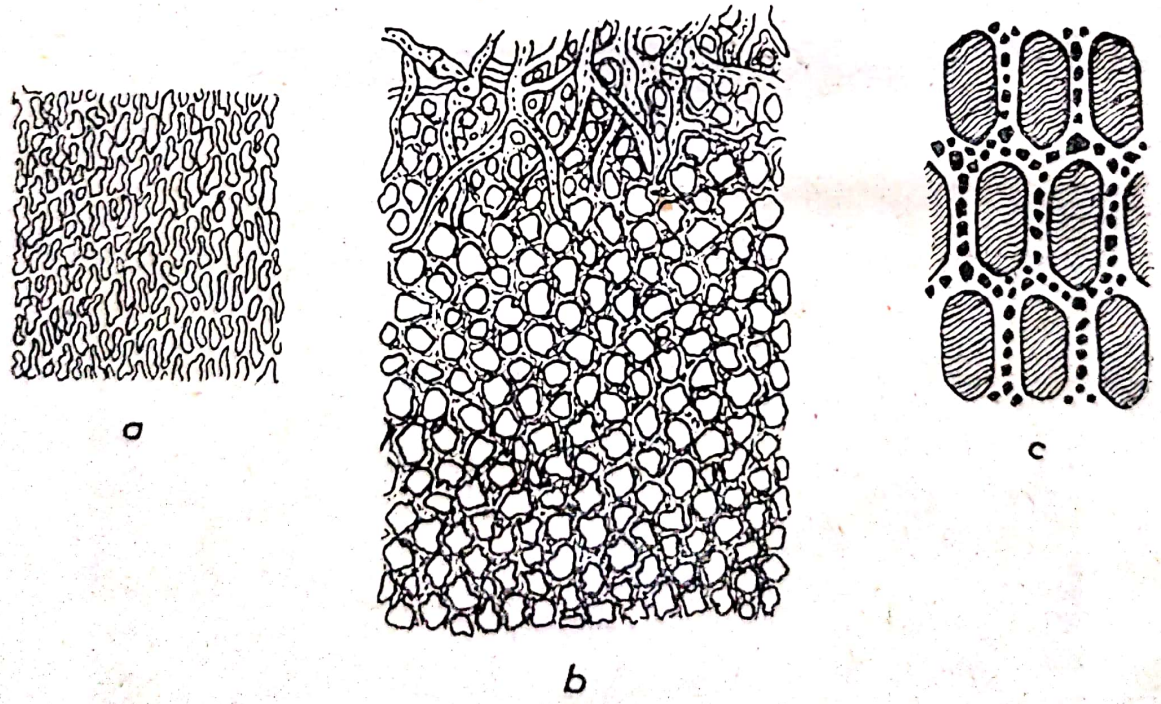


Fig. 7. Imbibiția anizotropă a talului de *Laminaria*:
a — secțiune de *Laminaria* în alcool absolut; *b* — secțiune de *Laminaria* în apă; *c* — schema structurii micelare a membranei, după Naegeli.

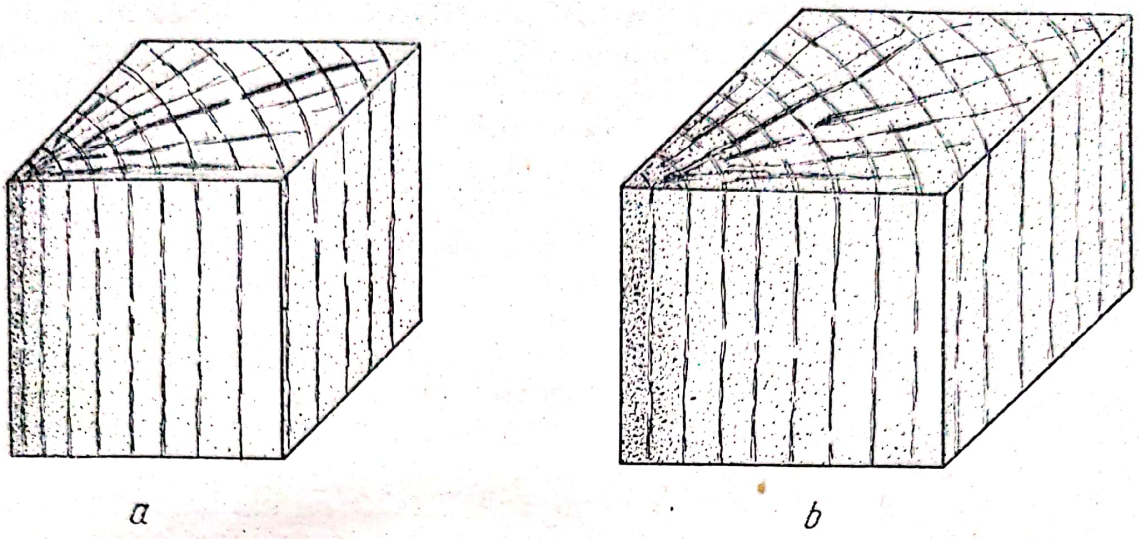


Fig. 8. Imbibiția anizotropă a lemnului :
a — cub de lemn uscat ; *b* — cub de lemn îmbibat cu apă.

b) *Imbibiția anizotropă a lemnului.* Se ia un cub de lemn cu laturile de 2 cm. Cubul se confecționează în așa fel ca una din muchii să coincidă cu axa longitudinală a tulpinii, altă muchie să coincidă cu raza, iar a treia să fie paralelă cu tangenta la rază (fig. 8). Cubul se pune la îmbibat în apă distilată timp de 24 de ore. În acest interval de timp se măsoară laturile cubului de mai multe ori (după 1, 3 și 24 de ore). Se va constata că laturile care au coincis cu razele au crescut cel mai mult în dimensiuni; mai puțin au crescut laturile paralele cu tangentele și aproape imperceptibil, laturile paralele cu axul longitudinal. Cele constatate dovedesc că în lemn imbibiția nu decurge egal în toate sensurile — este anizotropă. Anizotropia în imbibiție se explică prin faptul că micelele coloidale filiforme de celuloză se îmbibă mai mult în sens perpendicular pe direcția în care sînt orientate.

Experiența nr. 12

INFLUENȚA ELECTROLIȚILOR ASUPRA PROCESULUI DE IMBIBIȚIE

a) *Imbibiția plăcilor de gelatină în soluții de electroliți în ordinea influenței cationilor și anionilor.* Se pregătesc 2 serii de cutii Petri. În prima serie de 4, se pun: într-o cutie apă distilată, în alta KCl 2 *M* (reactivul 27 *a*), în a treia NaCl 2 *M* (reactivul 28 *a*), iar în a patra LiCl 2 *M* (reactivul 24 *a*). În această serie, anionii sînt aceeași; variază numai cationii. În a doua serie de 3 cutii, se pun: KCl, KBr, KI,

toate soluțiile cu concentrația de 1 *M* (reactivii 27 *b*, 18 și 45 *a*). În fiecare din aceste 7 cutii se introduce cîte o foiță de gelatină 30/10 mm. Rezultatele se pot lua după 3 sau 24 de ore. Se măsoară foițele de gelatină cu o riglă de celuloid direct în soluție, fără să fie scoase afară. Se va observa că în apă gelatina s-a îmbibat mai puțin decît în soluțiile care conțin electroliți, ceea ce se poate aprecia prin dimensiunile mai mari pe care le ating foițele din soluții față de cele din apă. Se va mai constata că însăși influența electroliților este diferită, putîndu-se stabili o gradație a influenței atît pentru anioni cît și pentru cationi. Ionii grupați în ordinea crescîndă a influenței lor asupra imbibiției formează așa-numita serie liotropă a lui Hoffmeister. În experiența de față se pot stabili două serii liotrope. Pentru anioni: $Cl^- < Br^- < I^-$, iar pentru cationi: $K^+ < Na^+ < Li^+$. O condiție pentru reușita experienței este executarea ei la o temperatură mai mică de 22°C, cînd imbibiția gelatinei este limitată, adică foița pusă la îmbibat își păstrează forma. Este important de subliniat că influența iodului este atît de puternică, încît, și în aceste condiții, imbibiția gelatinei devine nelimitată, aceasta solvindu-se în soluție. Sînt și anioni care micșorează imbibiția.

Explicarea mecanismului imbibiției în electroliți se bazează pe următoarea considerație. Cationii care se fixează pe micela coloidală aduc și apa lor de hitratare (dipolii de apă) și imbibiția sporește.

b) *Influența diferiților cationi asupra imbibiției substanțelor mucilaginoase din testa semințelor de in.* Sînt substanțe coloidale care, spre deosebire de gelatină, se îmbibă mai puțin în electroliți decît în apă. Așa sînt substanțele mucilaginoase din testa semințelor de in *(Linum)*. Se iau 4 eprubete mici izodiametrice și în fiecare se pune aceeași cantitate de semințe de in, care au testa seminală formată din substanță pectocelulozică. Se marchează nivelul inițial la care se găsesc semințele. Se toarnă în prima eprubetă cîțiva mililitri de apă, în a doua aceeași cantitate de soluție de KCl 2 *M* (reactivul 27 *a*), în a treia NaCl (reactivul 28 *a*), iar în a patra LiCl (reactivul 24 *a*), aceeași concentrație. După 24 de ore se constată că imbibiția a decurs inegal. În apă, imbibiția este mai mare decît în electroliți, care formează următoarea serie liotropă: KCl> >NaCl>LiCl (fig. 9). Spre deosebire de substanțele proteice, substanțele hidrocarbonate se îmbibă mai mult cu apă decît cu soluții de electroliți. Aici, ionii dizolvați în apă au reținut apa cu putere. Efectul ionilor fixați pe micelă este mai mic decît efectul celor rămași în soluție, care reține apa.

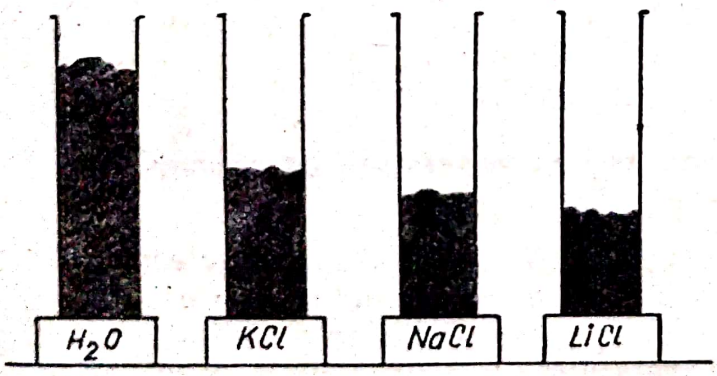


Fig. 9. Influența electroliților asupra imbibiției mucilagiilor din testa semințelor de in (influența cationilor).

D. DIFUZIUNEA

Difuziunea este interpătrunderea moleculelor a două substanțe miscibile puse în contact direct, datorită mișcărilor cinetice moleculare. Viteza de difuziune este determinată de mărimea și masa moleculelor, de concentrația soluțiilor, de vis-cozitatea mediului, de temperatură, de indicele electrostatic al sistemului și de alți factori.

Experiența nr. 13

DIFUZIUNEA CRISTALOIDELOR ÎN APĂ

a) *Difuziunea $CuSO_4$.* Într-o eprubetă se introduce cu o pipetă o soluție 20% de $CuSO_4$. Deasupra se toarnă cu o pipetă un strat de apă, avînd grijă ca cele două lichide să nu se amestece inițial. Se marchează limita de separare între cele două lichide cu hîrtie gumată, apoi se lasă eprubeta în repaos. După un timp oarecare (3—48 ore), se observă difuziunea $CuSO_4$ prin colorarea treptată a stratului de apă.

b) *Difuziunea $KMnO_4$.* Se ia un tub de sticlă închis la un capăt și care se termină cu un rezervor mai lărgit, cum arată figura 10. Se umple dispozitivul complet cu apă, apoi în rezervor se dă drumul la un cristal de $KMnO_4$. Se lasă dispozitivul în repaos, cristalul de $KMnO_4$ se dizolvă și după mai multe ore difuzează în ramul înalt. Este o difuziune ascendentă, care învinge forța de gravitație.

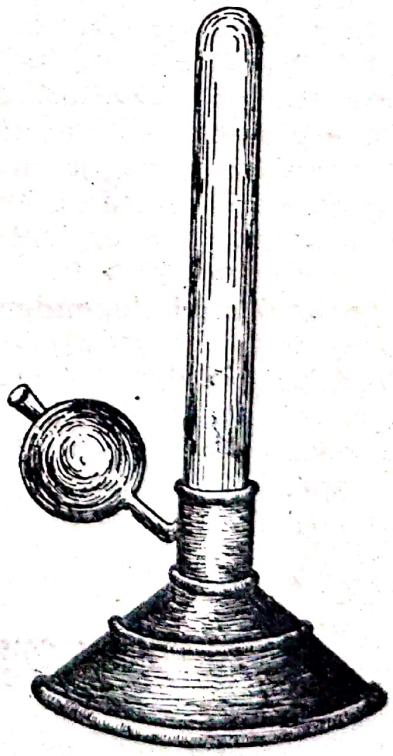


Fig. 10. Difuziunea $KMnO_4$ în apă.

Experiența nr. 14

VITEZA DE DIFUZIUNE A IONILOR ÎN GELURI COLOIDALE

Difuziunea soluțiilor incolore se poate face vizibilă dacă se adaugă sistemului de difuziune un reactiv adecvat, care să precipite în contact cu substanța ce difuzează.

Se dizolvă într-o capsulă pe o baie de apă fierbinte 10 g gelatină în 80 ml de apă distilată și, după ce s-a răcit puțin soluția, se amestecă cu 10 ml de soluție de $AgNO_3$ 0,1 *n* (reactivul 13 *a*). Preparatul se distribuie egal în 6 eprubete izodiametrice. După gelificare se marchează meniscul cu fîșii de hîrtie gumată, apoi se adaugă cîte 5 ml de soluție normală din următoarele substanțe: KCl, NaCl, LiCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$ și $AlCl_3$ (reactivii 27 *b*, 28 *b*,

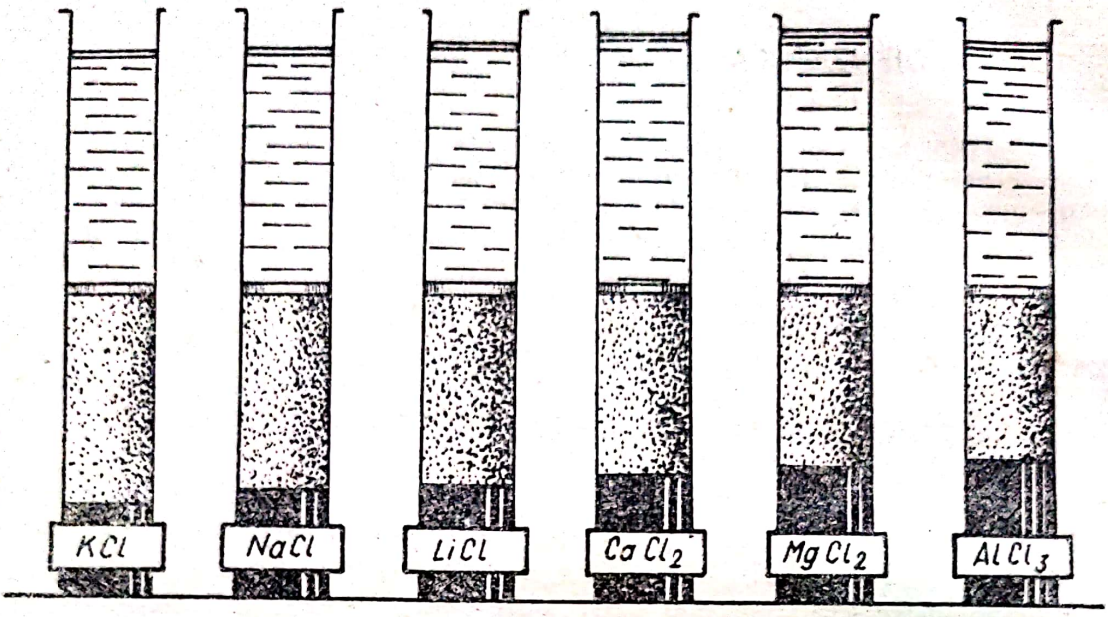


Fig. 11. Viteza de difuziune a ionilor în geluri coloidale.

24 *b*, 23 *a*, 25 *şi* 22 *a*). Eprubetele etichetate se lasă în repaos la întuneric pentru a evita transformările fotochimice. Zona de difuziune apare bine delimitată în urma formării precipitatului alb de AgCl. După 24 de ore se observă rezultatele măsurînd lungimea coloanei de precipitat. Viteza de mişcare a electrolitului este determinată de mărimea învelişului de apă pe care ionii săi au legat-o prin forţe electrostatice. Mărimea acestei capacităţi de hidratare depinde de valenţa cationului; la valenţe egale depinde de raza ionului, adică de numărul de straturi de electroni ce înconjură nucleul. Cu cît raza este mai mare, cu atît cantitatea de apă atrasă de ion este mai mică. După viteza de difuziune a cationilor luaţi în experienţă, se poate întocmi următoarea serie liotropă: $K^+ > Na^+ > Li^+ > Ca^{++} > Mg^{++} > Al^{+++}$ (fig. 11), în care se remarcă în primul rînd dependenţa vitezei de difuziune de valenţa cationului. În al doilea rînd (la cationii monovalenţi), se remarcă scăderea vitezei de difuziune datorită creşterii învelişului de apă la ionii cu rază mică, cum este litiul. La ionii monovalenţi cu rază mare, cum este potasiul, se observă creşterea vitezei de difuziune, datorită micşorării învelişului de apă.

Experienţa nr. 15

DIFUZIUNEA CRISTALOIDELOR ŞI COLOIDELOR IN GELURI COLOIDALE

Se folosesc următoarele soluţii diluate de substanţe cristaloide şi coloide, în ordinea crescîndă a dimensiunilor moleculare: $CuSO_4$ 1%, albastru de metilen, roşu neutru, eozină 1/10 000, albastru

de anilină (reactivul 9), roşu Magdala (reactivul 59), roşu de Congo (1/10 000), tuş şi clei de amidon 0,1% (reactivul 20 *d*). Ca gel coloidal se foloseşte o soluţie de gelatină 10%, gelificată în eprubete în coloane de 10 cm. Pentru pregătirea gelului coloidal se dizolvă 10 g de gelatină în 90 ml de apă încălzită într-o capsulă la 50—60°C. Hidrosolul obţinut se toarnă în eprubete şi se lasă să se gelifice. Deasupra gelului se toarnă 1—2 ml din soluţiile mai sus amintite. Se marchează limita de separare între gel şi soluţie prin hîrtie gumată, apoi se lasă în repaus timp de 24 de ore. După acest timp se va observa că soluţia de sulfat de cupru a difuzat pînă spre baza gelului, iar celelalte soluţii au difuzat din ce în ce mai puţin, în ordinea enumerării lor. Cel mai puţin difuzează tuşul, iar cleiul de amidon, de loc. Pentru a constata difuziunea la amidon, se varsă cleiul de deasupra gelului, se spală cu apă, apoi se pune o soluţie de Lugol (reactivul 64). Culoarea albastră apare numai la suprafaţa gelatinei, ceea ce dovedeşte că amidonul n-a difuzat în profunzime. Observaţia generală care reiese din experienţă este că substanţele cristaloide şi coloide difuzează în geluri coloidale cu o viteză invers proporţională cu ponderea moleculară.

Experienţa nr. 16

DIFUZIUNEA ÎN GELURI DE DIFERITE DENSITĂŢI

Se prepară un hidrosol de gelatină 20%, care se diluează de trei ori cu cantităţi egale de apă caldă, pentru a se obţine, respectiv, concentraţiile de 10%, 5% şi 2,5%. Se pun aceste hidrosoluri în 4 eprubete, iar după gelificare se adaugă 1—2 ml de soluţie de albastru de metilen 0,1%. După 48 de ore de repaos, se constată că viteza de difuziune este invers proporţională cu densitatea gelului, adică în eprubeta cu gelatină 2,5% albastrul de metilen a difuzat mai profund (aproape de trei ori) decît în eprubeta cu gelatină 20%.

E. OSMOZA

Difuziunea între două soluţii separate printr-o membrană poroasă poartă numele de osmoză. Fenomenul de osmoză are loc numai între două lichide miscibile de concentraţii diferite, dintre care cel puţin unul trebuie să ude membrana. Ca şi difuziunea, osmoza tinde să uniformizeze concentraţiile a două soluţii, însă printr-un mecanism invers. În difuziune, substanţa dizolvată este aceea care se deplasează, fără mişcarea aparentă a lichidului, iar în osmoză, dizolvantul se deplasează prin membrană către mediul mai concentrat, ducînd astfel la un echilibru de concentraţie. Fenomenul de osmoză se explică prin energia cinetică mai mare a particulelor de solvent pur sau din soluţia mai puţin concentrată faţă de energia cinetică a celor din soluţia mai concentrată. Datorită acestui fapt, prin membrană va trece mai mult solvent către

Scanned with OKEN Scanner

soluția concentrată. Pentru a opri acest curent de solvent, este necesar să se exercite asupra soluției concentrate o contrapresiune mecanică, a cărei valoare reprezintă tocmai valoarea *presiunii osmotice* a soluției. Astfel, presiunea osmotică este un fenomen condiționat de prezența membranei ce separă solventul de soluție. Soluțiile neseparate de membrană nu manifestă presiune osmotică. Ele au un potențial osmotic a cărui valoare depinde de aceeași factori ca și presiunea osmotică (concentrația soluției, temperatură etc.). Pentru studierea fenomenului de osmoză se pot folosi două feluri de membrane poroase: permeabile și semipermeabile.

1. OSMOZA PRIN MEMBRANE PERMEABILE

Membranele permeabile permit trecerea atît a solventului cît și a substanței dizolvate.

Experiența nr. 17

OSMOMETRUL DUTROCHET

Se compune dintr-un tub de sticlă în formă de pîlnie (fig. 12). La partea mai lărgită a acestui tub, cu ajutorul unui fir de ață, se fixează o membrană degresată și umectată de tub de intestin. Se toarnă în osmometru o soluție osmotic activă, de exemplu zaharoză 10% sau NaCl 20%. Se spală la exterior osmometrul de resturile de soluție, apoi se introduce cu mebrana într-un vas cu apă distilată. Se marchează nivelul lichidului din osmometru cu o fîșie de hîrtie gumată. După un timp oarecare, nivelul lichidului din osmometru crește. Datorită diferenței de concentrație, moleculele de apă dinafară se deplasează prin membrană spre soluția mai concentrată, constituind curentul endosmotic (endosmoza). Deoarece membrana de țesut animal mort este permeabilă, substanța dizolvată difuzează spre exterior printr-un curent exosmotic pînă la echilibrul de concentrații. Ca urmare, după un timp, se observă scăderea nivelului lichidului, datorită diferenței de viteză între curentul endosmotic și cel exosmotic. Ca rezultat al curentului exosmotic, în cazul membranelor permeabile, presiunea osmotică nu se manifestă integral.

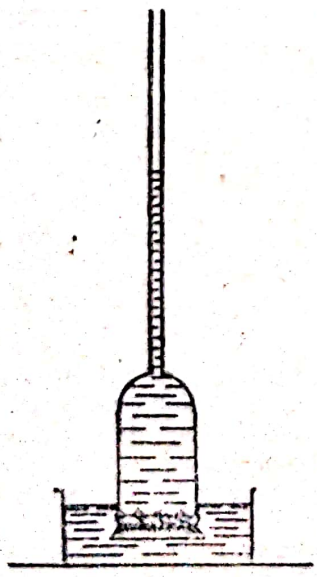


Fig. 12. Osmometrul Dutrochet.

Experiența nr. 18

OSMOMETRUL CU MEMBRANĂ DE COLODIU

Pregătirea membranei de colodiu. Într-o cutie Petri cu diametrul de 8—10 cm, așezată pe o masă stabilă, se toarnă mercur pur, pînă ce fundul cutiei se acoperă uniform. Se toarnă apoi o soluție

de colodiu 4%, repede şi uniform, începînd de la mijloc, pînă se acoperă complet mercurul. După cîrca o oră, din solventul colodiului se evaporă o parte, iar marginea peliculei formate începe să se încreţească. Abia acum, şi nu mai înainte, se desface cu un cuţitaş marginea peliculei care aderă la peretele de sticlă şi se scoate pelicula cu atenţie, apucînd-o din două părţi. Membrana astfel obţinută, încă în stare plastică, se aşază centrat pe deschiderea unui osmometru scurt, ca în figura 13, iar marginea membranei care depăşeşte osmometrul se modelează cu atenţie, evitînd formarea cutelor. Se leagă marginea răsfrîntă cu o sfoară de cînepă, astfel încît membrana încă moale să nu se taie. „Celula" astfel preparată se lasă la aer 2 ore, în care timp membrana se usucă şi se întăreşte. După aceea, „celula" se umple cu apă distilată şi se suspendă într-un vas cu apă distilată timp de o zi, pentru maturarea definitivă a membranei. Acum „celula" este gata de întrebuinţare. Osmometrul cu colodiu rămîne utilizabil multă vreme dacă, după fiecare experienţă se clăteşte bine, se păstrează sub apă, în care s-a pus un grăunte de timol. Osmometrul cu colodiu funcţionează rapid şi precis. Este indicat special pentru determinările cantitative la care membranele nu sînt supuse la presiuni mari. Selectivitatea membranei este superioară selectivităţii băşicii de porc. Pentru a obţine membrane semipermeabile, necesare studierii soluţiilor cu molecule mici sau disociate, membranele legate la osmometru se lasă să se usuce la aer timp de 12 ore înaintea introducerii în apă pentru maturarea definitivă.

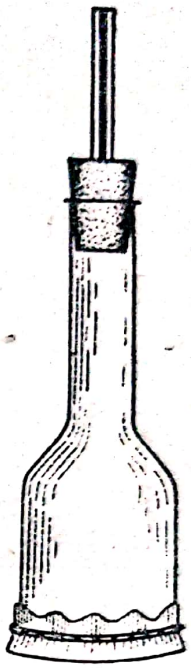


Fig. 13. Osmometrul cu membrană de colodiu.

Experienţa nr. 19

VERIFICAREA LEGILOR OSMOZEI

a) *Legea concentraţiilor.* După Van t'Hoff, la temperatură constantă presiunea osmotică a unei soluţii variază direct proporţional cu concentraţia sa. Pentru verificarea acestei legi se folosesc două osmometre, pe cît posibil egale, cu membrană de colodiu. Se încarcă aceste osmometre pînă la acelaşi nivel cu o soluţie osmotic activă, de exemplu zaharoză 0,5 *M* (reactivul 73 *d*), şi, respectiv, 1 *M* (reactivul 73 *c*) sau 10 şi 20%. Osmometrele se introduc deodată în două cristalizoare cu apă distilată şi se notează nivelul lichidului cu fîşii de hîrtie gumată. După cîtva timp (o oră), se constată că nivelul lichidului din osmometrul cu soluţia 1 *M* creşte dublu faţă de nivelul lichidului din osmometrul cu soluţia 0,5 *M* (fig. 14).

b) *Legea temperaturii.* Presiunea osmotică este direct proporţională cu temperatura. La creşterea temperaturii cu 1°C, presiunea osmotică creşte cu 1/273 din valoarea pe care ar avea-o la 0°C. Această lege se

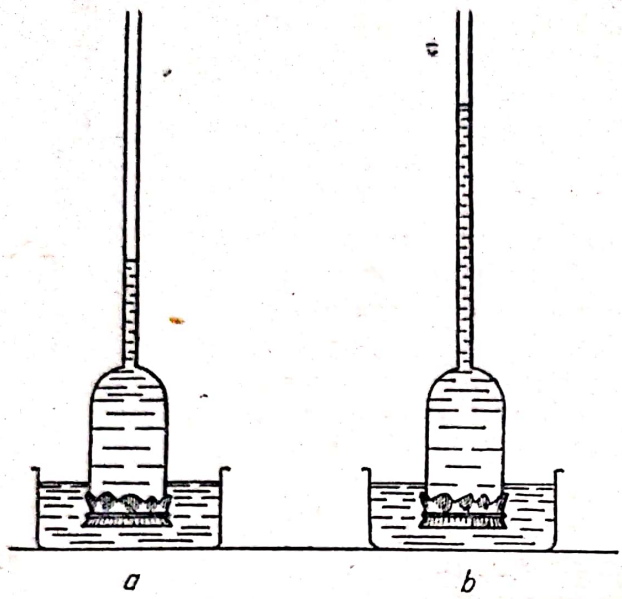


Fig. 14. Verificarea legilor osmozei — legea concentraţiilor :

a — osmometru cu soluţie de zaharoză 0,5 *M*; *b* — osmometru cu soluţie de zaharoză 1 *M*.

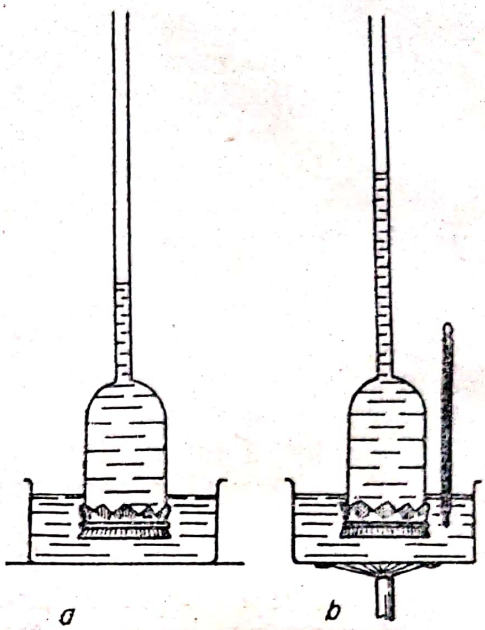


Fig. 15. Verificarea legilor osmozei — legea temperaturii :

a — osmometru ţinut la temperatura camerei; *b* — osmometru menţinut la temperatura de 40°C.

verifică folosind două osmometre cu membrană de colodiu, încărcate pînă la acelaşi nivel cu soluţie de zaharoză 1 *M*. Un osmometru se lasă să funcţioneze la temperatura camerei. În vasul cu apă distilată al celui de-al doilea osmometru se introduce un termometru şi se aşază într-o baie de apă a cărei temperatură să atingă 40°C. Ambele osmometre fiind montate în acelaşi timp, după circa ½ oră se va constata că fenomenul de osmoză are loc mai activ acolo unde temperatura este mai ridicată. Aceasta se vede după nivelul mai ridicat al lichidului (fig. 15).

2. OSMOZA PRIN MEMBRANE SEMIPERMEABILE

Membranele semipermeabile permit trecerea solventului, oprind substanţa solvită. Există şi mebrane semipermeabile selective, care permit trecerea atît a solventului cît şi a anumitor substanţe solvite. Astfel funcţionează plasmalema, citoplasma şi tonoplastul, care împreună formează sacul protoplasmatic. Acesta se comportă ca o membrană semipermeabilă selectivă.

Experienţa nr. 20

CELULA ARTIFICIALĂ A LUI TRAUBE

a) Se pune într-o eprubetă sau mai bine într-un cilindru negradat soluţie de $CuSO_4$ 0,5 *n* (reactivul 69 *d*). Cu ajutorul unei pipete, se introduce, prelingînd pe perete, o cantitate de soluţie de ferocianură de potasiu 1 *n* (reactivul 34 *a*). Picătura de ferocianură de potasiu se

va înconjura imediat cu o membrană semipermeabilă de precipitare, fragilă, de ferocianură de cupru, după reacţia: $K_4[Fe(CN)_6] + 2\,CuSO_4 \rightarrow$ $\rightarrow Cu_2[Fe(CN)_6] + 2\,K_2SO_4$.

Prin formarea membranei, soluţia de ferocianură de potasiu se va delimita de soluţia de $CuSO_4$, sub forma unei „celule". Concentraţia celor două soluţii fiind diferită, între ele se va stabili un intens curent osmotic. Apa din soluţia de $CuSO_4$ care este mai puţin concentrată va trece osmotic prin membrana semipermeabilă spre soluţia mai concentrată de ferocianură din interiorul „celulei". Soluţia de $CuSO_4$ din jurul „celulei" se va concentra şi va cădea spre fundul eprubetei sub formă de curenţi. În acelaşi timp, membrana „celulei" se va umfla, va crăpa, iar cele două soluţii, intrînd în contact direct, vor reface membrana. Procesul va continua pînă la uniformizarea concentraţiilor.

Dacă în acelaşi mod se procedează cu o soluţie de ferocianură 1/8 *n* (reactivul 34 *c* sau 1/16 *n* (reactivul 34 *d*), se va forma de asemenea o „celulă" Traube, însă apa va ieşi osmotic din celulă, care se va contracta, iar soluţia de $CuSO_4$ din imediata apropiere se va dilua şi va urca sub formă de curent.

b) „Celula" artificială a lui Traube se poate obţine şi în alt mod. Într-o eprubetă se iau cîţiva mililitri de soluţie de $CuSO_4$ 1,5 *n* (reactivul 69 *b*), în care se dă drumul la un cristal de ferocianură de potasiu. Ca urmare a dizolvării treptate a cristalului de ferocianură se formează o membrană semipermeabilă, care separă cristalul de soluţie. Între membrană şi cristal se va forma o soluţie foarte concentrată, osmotic activă, de ferocianură, care va atrage apa din soluţia de $CuSO_4$. Ca urmare, volumul „celulei" va creşte, membrana se va sparge, iar soluţiile, venind în contact direct, vor reface membrana semipermeabilă fragilă de ferocianură de cupru.

Experienţa nr. 21

OSMOMETRUL PFEFFER

Pregătirea osmometrului Pfeffer se bazează pe formarea unei membrane semipermeabile de ferocianură de cupru în pereţii unui vas de lut poros sau de porţelan. Drept vas poros se poate folosi un cilindru de porţelan sau un filtru Chamberland. Se pot folosi şi filtre de sticlă poroasă cu porozitate mică. Se umple vasul poros cu o soluţie 0,5 *n* de ferocianură de potasiu (reactivul 34 *b*) şi se introduce pentru 20 de minute într-o soluţie normală de $CuSO_4$ (reactivul 69 c). În pereţii poroşi ai vasului se formează o membrană semipermeabilă de ferocianură de cupru, după reacţia descrisă la experienţa anterioară. Se scoate vasul din soluţia de $CuSO_4$, se varsă soluţia de ferocianură de potasiu şi se clăteşte cu apă distilată. Se pune în vas soluţie concentrată de zaharoză şi se închide cu un dop etanş prin care trece capătul unui manometru cu mercur. Dispozitivul se introduce în apă distilată. Astfel pregătit, osmometrul este gata de întrebuinţare. Apa începe să difuzeze

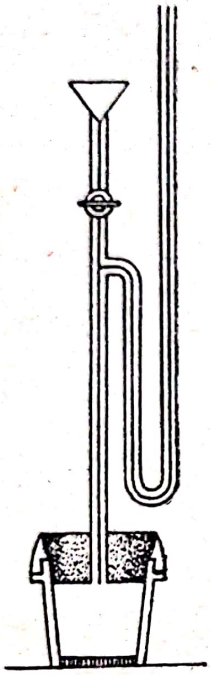


Fig. 16. Osmometrul Pfeffer.

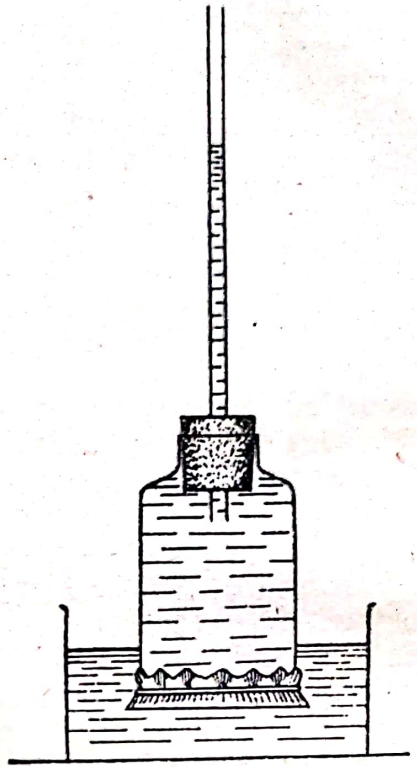


Fig. 17. Osmometrul cu membrană semipermeabilă rezistentă.

prin membrana semipermeabilă de ferocianură de cupru, iar soluția va urca nivelul mercurului din manometru (fig. 16). Osmometrul poate funcționa timp de 2—3 zile. Înainte de fiecare întrebuințare, membrana trebuie refăcută, după ce porii vasului au fost spălați cu acid clorhidric, timp de 15—20 minute, apoi cu apă. Rezultate evidente se pot observa după 6—8 ore de la montare. Cu ajutorul acestui osmometru se poate măsura presiunea osmotică absolută.

Experiența nr. 22

PREGĂTIREA DE MEMBRANE SEMIPERMEABILE REZISTENTE

Se ia un osmometru scurt, se leagă la partea inferioară cu o hîrtie de celofan care s-a înmuiat în apă călduță. Se pregătește o soluție de gelatină 10%. În osmometrul legat cu celofan, care se menține cald deasupra unei băi, se toarnă soluția de gelatină fierbinte, atît cît să formeze un strat uniform gros de 2—3 mm, pe toată suprafața celofanului (fig. 17). Osmometrul pus la suport se lasă în repaus pentru a se răci. Cînd gelatina s-a întărit, se toarnă în osmometru cam 5 ml de $CuSO_4$ 3% și apoi se împlîntă cu membrana într-un pahar cu soluție de ferocianură de K aceeași concentrație. Osmometrul fixat la suport se lasă să stea în soluție timp de 24 de ore. Soluțiile de $CuSO_4$ și

$K_4[Fe(CN)_6]$ vor difuza în gelatină. La locul de întîlnire se va forma un precipitat de $Cu_2[Fe(CN)_6]$, de culoare brună, care se depune uniform, formînd o membrană semipermeabilă, rezistentă, deoarece a luat naştere pe un schelet de gelatină. După 24 de ore se spală osmometrul la exterior şi interior cu apă distilată apoi se poate monta cu o soluţie osmotic activă.

Experienţa nr. 23

OSMOZA NEGATIVĂ

Dacă printr-o membrană animală (tub de intestin, băşică) se separă apa de o soluţie diluată de acid, atunci se nasc forţe electrostatice care inversează mişcarea osmotică normală. Membrana animală, fiind un amfolit, în mediu acid se încarcă electropozitiv şi, în acest caz, apa din porii membranei se încarcă electronegativ (fig. 18). Pe de altă parte, acidul se disociază în ioni de hidrogen încărcaţi pozitiv şi radicali încărcaţi negativ. Ionii de hidrogen care sînt mai mobili se deplasează mai repede prin pori, ducînd sarcina lor pozitivă de cealaltă parte a membranei, unde se creează un domeniu electropozitiv. Apa, care în porii membranei se încarcă electronegativ, corespunzător sarcinii sale, se va deplasa de la domeniul negativ, reprezentat prin soluţia acidă, spre domeniul pozitiv, reprezentat prin apă. Astfel se creează un potenţial electric de difuziune. Acest efect se produce numai cu soluţii foarte diluate, pînă la circa 1/8 *M*, deoarece la concentraţii mai mari predomină forţele osmozei normale.

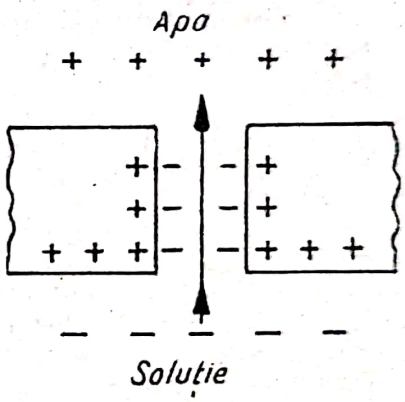


Fig. 18. Schema osmozei negative.

Practic se foloseşte un osmometru Dutrochet scurt la gură, la care se leagă o membrană animală bine degresată. Se umple osmometrul cu apă distilată şi se astupă cu un dop de cauciuc prin care trece un tub de sticlă capilar. Osmometrul se introduce într-un cristalizor cu 100 ml de apă distilată şi se notează nivelul. Apoi se introduc în apa din cristalizor 4 ml HCl 25% (reactivul 4 *d*) şi cu bagheta se omogenizează mediul. După puţin timp se va observa că lichidul se ridică în tubul capilar. Curentul osmotic va avea loc de la soluţia de acid clorhidric spre apa distilată, cu alte cuvinte invers faţă de curentul osmotic normal (fig. 19).

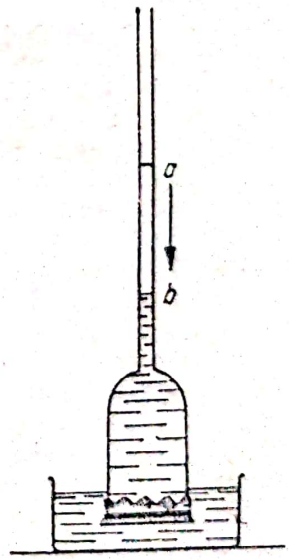


Fig. 19. Osmoza negativă:
a — nivelul iniţial;
b — nivelul final.

F. CELULA VEGETALĂ CA SISTEM COLOIDAL ŞI OSMOTIC

1. TEHNICA CERCETĂRII MICROSCOPICE A CELULELOR ŞI ŢESUTURILOR VII

Studiul fiziologic al celulelor şi ţesuturilor vegetale implică utilizarea unor microscoape cu diferite posibilităţi de analiză a obiectelor de cercetat. Cele mai curente procedee optice aplicate la analiza preparatelor microscopice vii, de origine vegetală, sînt microscopia în cîmp luminos, ultramiscroscopia şi microscopia în contrast de fază.

Cercetarea în cîmp luminos. În microscopia obişnuită cu cîmp luminos, posibilităţile de analiză se bazează pe diferenţa de intensitate luminoasă şi culoare care separă detaliile preparatului. Structurile protoplasmatice se diferenţiază între ele mai cu seamă pe baza indicelui de refracţie, fără schimbarea amplitudinii intensităţii luminii care le străbate. Din această cauză, în microscopia cu cîmp luminos, citoplasma şi nucleul apar optic vide, cînd în realitate ele includ numeroase formaţiuni ce nu sînt vizibile, întrucît diferenţele mici de indice de refracţie nu scot în evidenţă detaliile. Această limită a microscopiei obişnuite poate fi în mică măsură remediată prin deplasarea pe verticală a condensorului sau prin închiderea şi deschiderea irisului său. De asemenea, aplicarea filtrelor colorate poate mări unele contraste şi uşura observarea anumitor detalii.

Ultramicroscopia. Un mijloc mai nou pentru observarea anumitor detalii în studiul citofiziologic este ultramicroscopul sau microscopul cu fond întunecat. Acesta se deosebeşte de microscopul obişnuit prin felul de iluminare a preparatului. La ultramicroscop, razele de lumină cad lateral pe obiectul de iluminat şi ele nu pătrund în obiectiv decît după ce au fost puternic reflectate de obiect, astfel încît obiectul apare puternic luminat pe un cîmp întunecat. Acest fenomen este analog cu acela care se observă într-o cameră întunecată în care pătrunde un fascicul de raze solare printr-o deschidere mică şi care luminează toate firele de praf din calea lui, care în alte condiţii sînt invizibile. Acesta este fenomenul Tyndall. Iluminarea laterală se poate obţine prin metode diferite. De cele mai multe ori, se înlocuieşte condensorul de la microscopul obişnuit cu un condensor special, care are centrul opac şi permite trecerea razelor numai pe la marginea sa. După o reflectare pe pereţii laterali, razele sînt proiectate pe preparatul din faţa obiectivului fără a intra în microscop. După oblicitatea razelor, condensoarele sînt de două feluri: a) *condensor paraboloid* (fig. 20), care dirijează razele printr-o singură reflexie totală şi are nevoie de o sursă luminoasă obişnuită şi b) *condensorul cardioid*, care dirijează razele prin două reflexii totale, iar iluminarea preparatului este mult mai puternică, datorită oblicităţii mai mari a razelor incidente (fig. 21). Condensorul cardioid cere o sursă luminoasă mai puternică (300 W). Detaliile sesizate la ultramicroscop pot avea dimensiuni foarte mici (între 0,06 şi 0,02 microni), ceea ce arată că ele trec dincolo de limitele vizibilităţii cu microscopul obişnuit.

Modul de lucru. Observarea la ultramicroscop se face de obicei cu obiective puternice sau cu obiectivul cu imersiune. Pentru a înlătura împrăştierea razelor luminoase, se pune între lamă şi condensor o picătură de ulei de cedru, care are acelaşi indice de refracţie ca al sticlei. Dacă se lucrează cu obiectivul cu imersiune, se pune o picătură de ulei de cedru şi deasupra lamelei, împlîntînd obiectivul în ulei. Privind prin ocular, se centrează condensorul cu obiectivul pînă cînd cîmpul apare complet întunecat, iar detaliile preparatului apar sub formă de corpusculi strălucitori.

Microscopul cu contrast de fază. Cînd s-au prezentat principiile microscopiei cu cîmp luminos, s-au arătat motivele pentru care numeroase detalii existente în obiectul cercetat nu ies în evidenţă. În cîmpul luminos, din micile diferenţe de indice de refracţie nu rezultă diferenţe de intensitate luminoasă, iar detaliile obiectelor rămîn invizibile datorită lipsei de contrast faţă de fondul luminos general. Cea mai mare

Scanned with OKEN Scanner

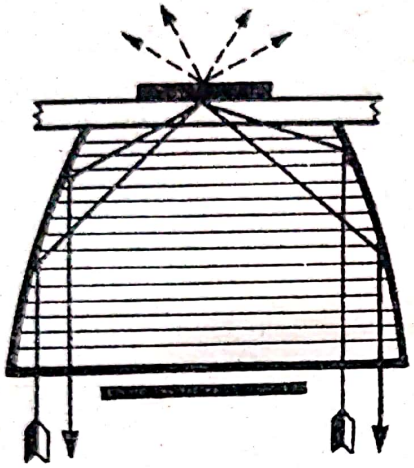


Fig. 20. Schema condensorului paraboloid.

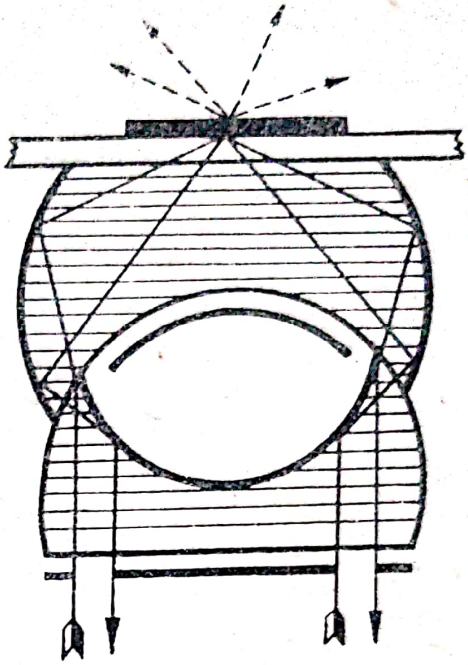


Fig. 21. Schema condensorului cardioid.

parte a preparatelor biologice vii sînt transparente și din această cauză în tehnica microscopică se provoacă în mod artificial contrastul imaginilor prin aplicarea colorantilor, care prezintă dezavantajul de a omorî obiectele vii. Microscopul cu contrast de fază imaginat de fizicianul olandez Zernike, în 1941, face posibilă observarea țesuturilor vii în condiții la fel de bune/ca și observarea țesuturilor moarte colorate. Dispozitivul cu contrast de fază transformă micile diferențe de indice de refracție în diferențe de intensitate luminoasă. Astfel, mărește contrastul imaginii și face să apară detaliile în regiuni care în microscopia obișnuită ar fi apărut optic vide. Această transformare se realizează prin întîrzierea cu un sfert de lungime de undă a luminii care vine direct de la sursă, cu ajutorul unui inel de fază dispus între lentilele obiectivului. Pe de altă parte, în funcție de valoarea indicelui de refracție al diferitelor porțiuni din preparat, lumina refractată de acesta, fără a suferi vreo schimbare a amplitudinii, deci a intensității, este întîrziată mai mult sau mai puțin. Între lumina directă și lumina întîrziată de preparat se produce o interferență din care rezultă o nouă undă luminoasă, a cărei amplitudine este mult mai mică și care este decalată cu $^1/_4$ din lungimea de undă față de lumina directă care dă fondul general luminos al cîmpului. Or, la un decalaj de $^1/_4$ lungime de undă, efectele undelor sînt separate, și cum unda rezultantă are amplitudinea mică, nu poate fi sesizată ca diferență de luminozitate pe cîmpul microscopic. Prin decalarea luminii directe cu $^1/_4$ lungime de undă, lumina directă interferează cu lumina rezultantă, efectele lor se sumează și diferențele de intensitate luminoasă devin sesizabile. Pentru ca toată lumina de la sursă să treacă prin inelul de fază, de care am amintit, și să fie decalată cu $^1/_4$ din lungimea de undă, condensorul are o diafragmă inelară care corespunde ca dimensiuni cu inelul de fază din obiectiv. Lumina refractată de preparat trece pe lîngă inelul de fază și este decalată.

Componența și modul de lucru al unei instalații cu contrast de fază. Instalația cu contrast de fază furnizată de firma „Zeiss—Jena" se compune din 4 obiective cu inel de fază notate Ph, un condensor cu revolver cu 4 diafragme, care corespund fiecărui obiectiv, și un microscop ajutător care se folosește la centrarea diafragmei inelare a condensorului cu inelul de fază din obiectiv. În drumul razelor de lumină se interpune un filtru galben-verde, întrucît cele mai bune observații se pot face în această lumină.

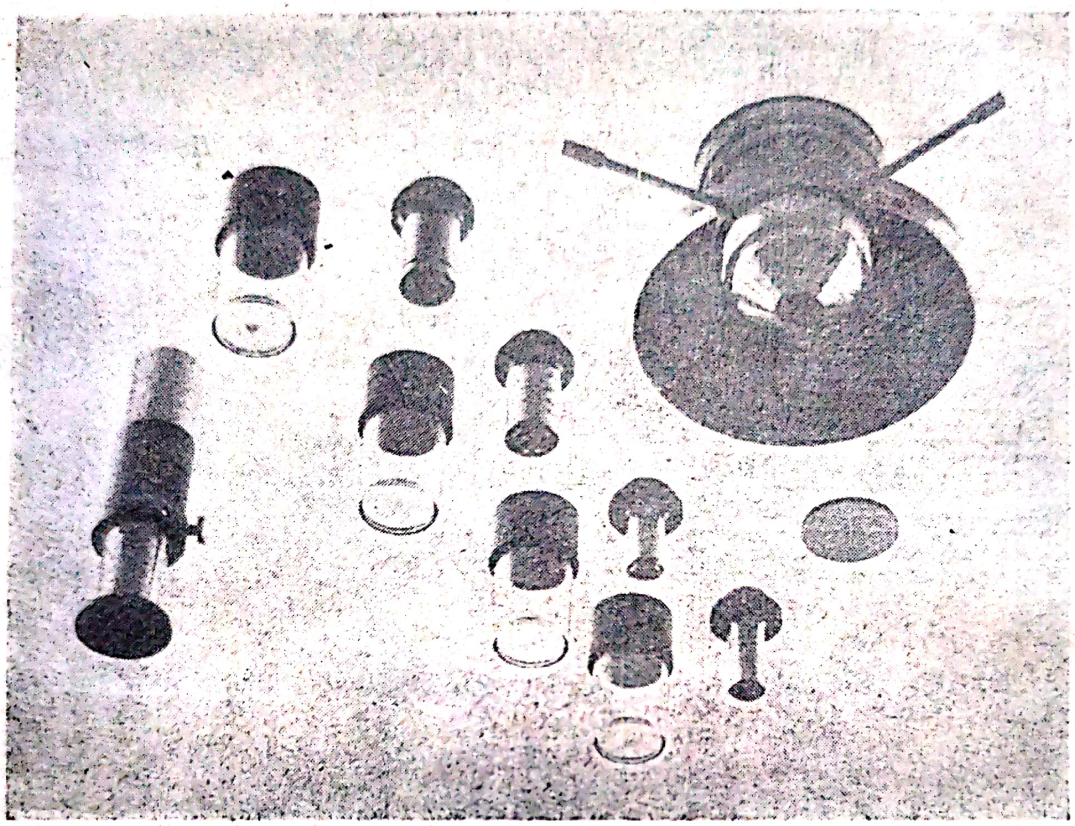


Fig. 22. Piesele instalației de contrast de fază.

Instalația și accesoriile sînt prezentate în figura 22. Pe discul purtător de diafragme sînt două ferestre prin care se văd numere. Una este de orientare, alta, marcată cu un punct roșu, indică în orice moment care diafragmă se află în axul optic al microscopului. Se citește prin fereastră puterea de mărire a obiectivului căruia îi corespunde diafragma. Pe marginea discului sînt lăcașuri în care se introduc cheițe speciale pentru centrarea diafragmei cu inelul de fază. În figura 23 este prezentat mersul razelor de lumină în microscopul cu contrast de fază.

Modul de lucru. În primul moment căutăm să citim în fereastra marcată cu punct roșu cifra 0, ceea ce ne spune că în axul optic nu avem diafragmă inelară. Se pune la microscop preparatul de cercetat și cu obiectivul Ph dorit și ocularul normal se pune la punct absolut precis. Se scoate ocularul și se așază în loc microscopul ajutător, care se pune la punct prin alungire, pînă se vede clar inelul de fază din obiectiv. Se rotește discul cu diafragme pînă ce în fereastra cu punct roșu se citește cifra corespunzătoare obiectivului cu care se lucrează. Aceasta înseamnă că în axul optic se găsește diafragma inelară corespunzătoare. Privind prin microscop, se vede un inel luminos suprapus peste imaginea inelului de fază întunecat de mai înainte (fig. 24). Manevrăm cheițele pînă ce suprapunerea este perfectă. Dacă diametrul inelului diferă de cel al diafragmei inelare, mișcînd condensorul pe verticală se realizează suprapunerea perfectă a conturului inelului (fig. 25). Dacă centrarea și suprapunerea inelului cu diafragma inelară nu este perfectă, efectul de contrast fazic nu se produce O dată terminată centrarea, se scoate microscopul ajutător și se pune din nou ocularul normal. Privind prin ocular, se vede imaginea preparatului pus la punct inițial, însă în contrast de fază.

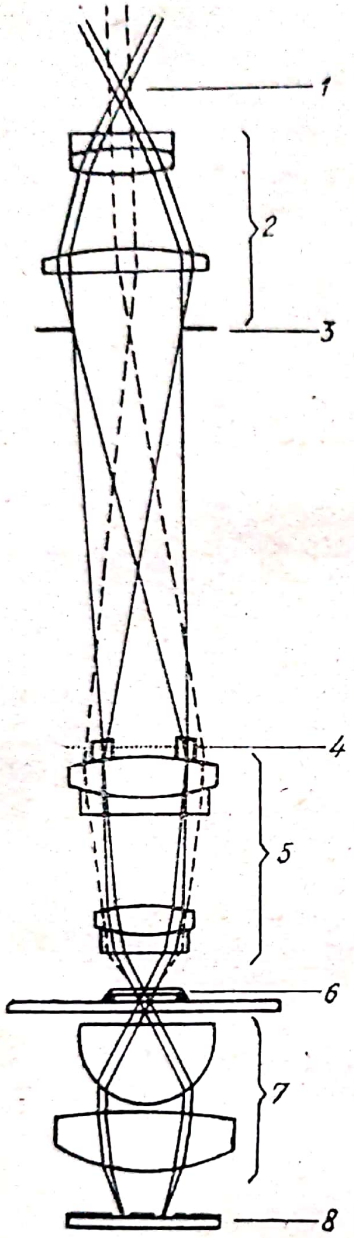


Fig. 23. Mersul razelor în microscopul cu contrast de fază :

1 — ochi ; *2* — ocular ; *3* — planul focal al ocularului ; *4* — inel de fază ; *5* — obiectiv ; *6* — preparat ; *7* — condensor ; *8* — diafragma de fază.

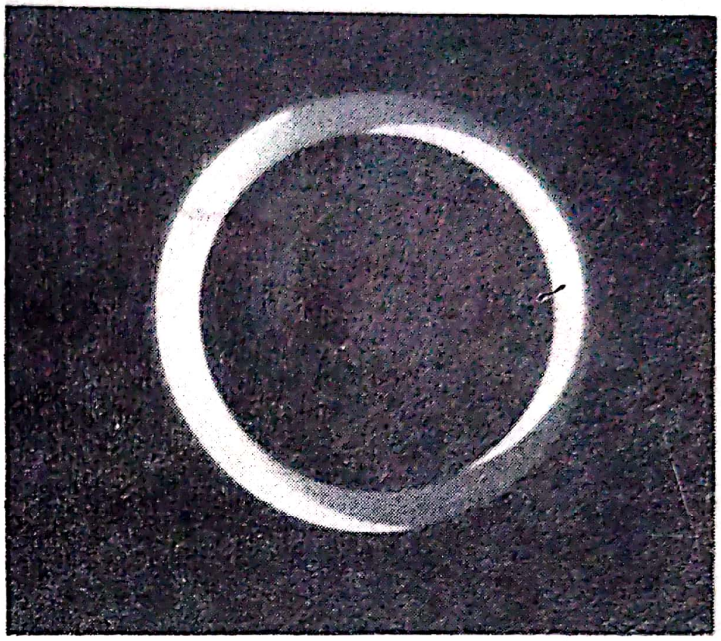


Fig. 24. Centrarea diafragmei cu inelul de fază, poziția incorectă.

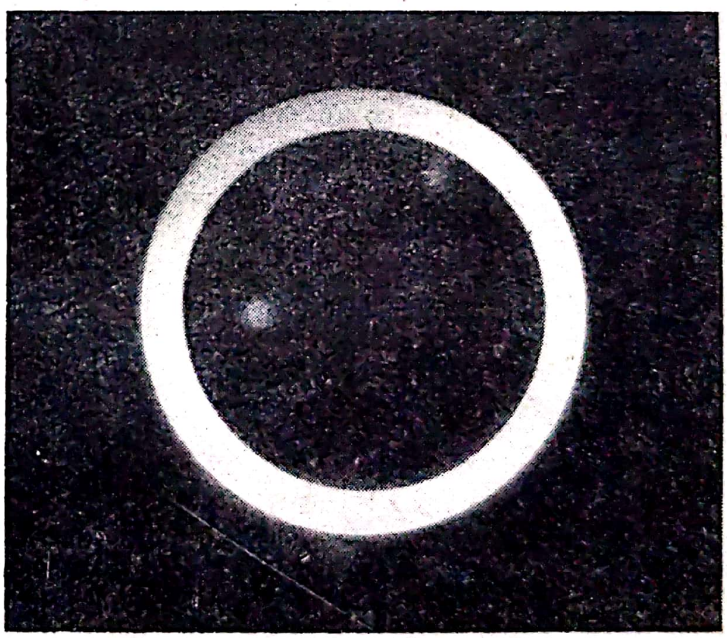


Fig. 25. Centrarea diafragmei cu inelul de fază, poziția corectă.

Experiența nr. 24

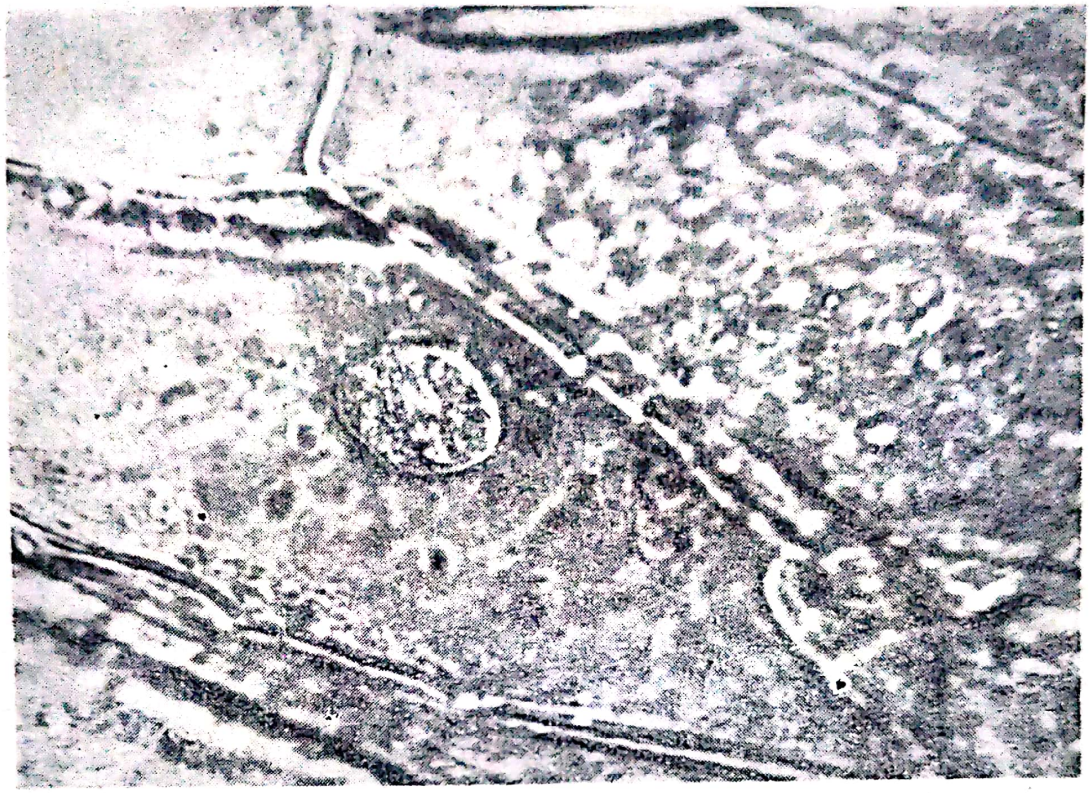
OBSERVAREA CELULELOR VII ȘI MOARTE ÎN CÎMP MICROSCOPIC LUMINOS

Cel mai potrivit material pentru studierea protoplasmei vii în orice timp al anului este epiderma frunzelor modificate din bulbul de ceapă *(Allium cepa)*. Deși protoplasma și nucleul se disting și la o mărire

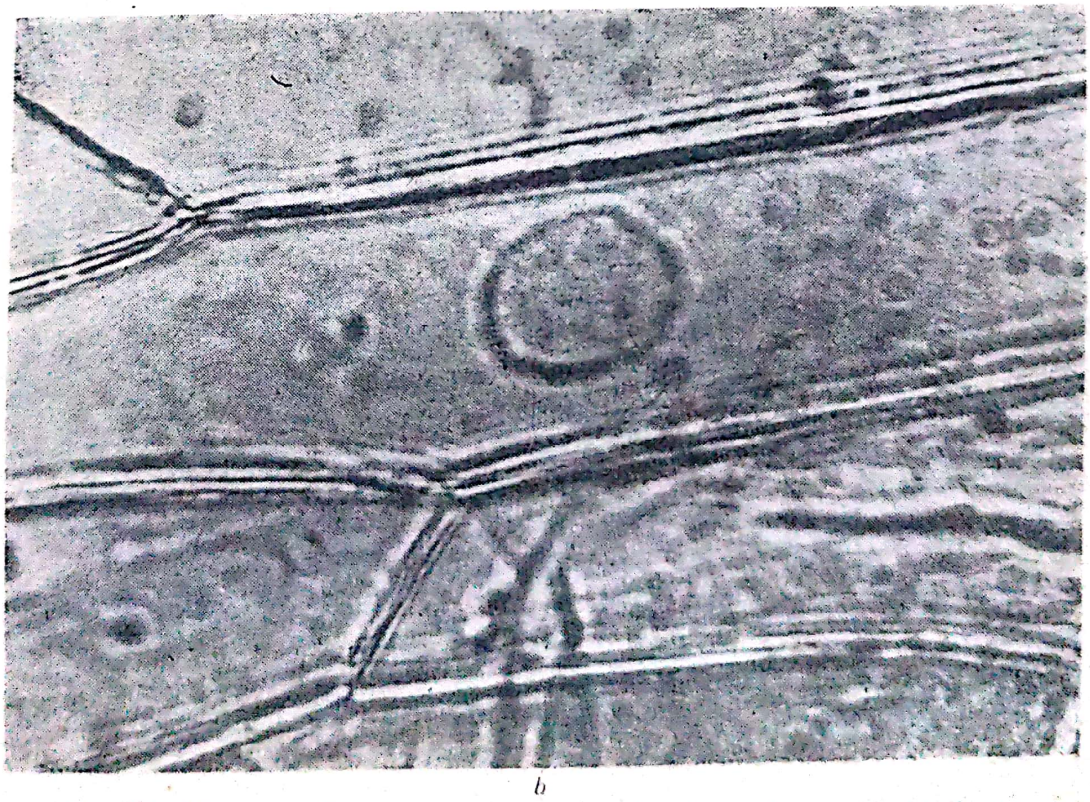
mijlocie cu diafragma condensorului închisă, o studiere mai profundă implică folosirea imersiunii în ulei. În aceste condiții, o celulă dintr-un fragment de epidermă de ceapă montată pe o lamă la microscop într-o picătură de apă ne prezintă următorul tablou. Citoplasma formează un strat parietal relativ subțire, de la care pornesc cordoane și filamente ce traversează vacuola și care converg spre un punct unde este acumulată mai multă protoplasmă. În acest punct se găsește nucleul discoidal. Nucleul se vede ca un disc rotund sau oval, dacă este situat pe un perete periclinal (văzut din față), iar dacă este situat pe un perete anticlinal (privit lateral), apare ca un solz subțire. Datorită prezenței a numeroase formațiuni optic diferențiate, în celulele nelezate mecanic sau chimic se poate observa mișcarea protoplasmei. Utilizînd un izvor puternic de lumină artificială, se poate încerca observarea structurii protoplasmei. Se observă că, atît în cordoane cît și în stratul protoplasmatic parietal, masa de bază a protoplasmei apare optic omogenă și nici cu cele mai puternice obiective cu imersiune nu se dezvăluie nici o structură. Totuși, datorită marii diferențe de indice de refracție față de protoplasmă se pot pune în evidență unele formațiuni caracteristice. *Microsomii* apar ca picături mici, rotunde, de dimensiuni destul de uniforme (0,7 microni), răspîndiți destul de uniform în masa citoplasmei. Aceștia sînt mereu antrenați în mișcare browniană. Dacă se închide diafragma condensorului, microsomii apar întunecați. Numărul microsomilor scade după o perioadă de inaniție a celulelor. Așadar, nu sînt formațiuni de sine stătătoare, vital importante ale celulelor, ci mai degrabă reprezintă substanțe de rezervă. Pentru a observa dispariția microsomilor din celulă, se iau fragmente de epidermă de ceapă și se montează pe lamă în ulei de parafină, acoperindu-se cu lamela. Astfel de preparate se pot păstra 1—3 săptămîni. Dacă celulele rămîn vii, observarea microscopică va pune în evidență scăderea numărului de microsomi și, în cele din urmă, moartea celulelor, care se manifestă prin oprirea mișcărilor protoplasmei. *Condriosomii* ies mai greu în evidență, datorită indicelui de refracție foarte apropiat de al citoplasmei. Sînt mai mari decît microsomii și de o formă foarte variată: rotunzi, ovali, moniliformi, filiformi. Se pot colora vital cu rodamină B 1/1 000 în timp de 2—5 minute, după care, aplicînd la microscop un filtru verde, ei apar mai contrastanți față de restul cîmpului. Colorarea cu rodamină B dovedește conținutul bogat în grăsimi al condriosomilor. *Leucoplastele*, ca indice de refracție, se apropie de condriosomi, dar sînt mai voluminoase și mai rotunde. Uneori, din stroma lor se întind filamente fine în direcția curgerii protoplasmei. Toate aceste organite sînt mobile, fiind antrenate de curenții interni ai citoplasmei. În starea vie a celulelor epidermice de ceapă nu se mai distinge nici o altă structură (fig. 26, *a*).

Dacă se omoară celulele introducînd sub lamelă acid clorhidric 5% (reactivul 4 *g*), protoplastul moare și se observă următoarele modificări: mișcarea citoplasmatică se oprește; citoplasma care era optic omogenă

Scanned with OKEN Scanner



a



b

Fig. 26. Observarea celulelor vii și moarte în cimp microscopic luminos:
a — celule vii; *b* — celule moarte.

Scanned with OKEN Scanner

prezintă o structură grosier-granulară ca rezultat al coagulării; dispar orice limite între microsomi, condriosomi și leucoplaste; nucleul celulelor se denaturează, devine granulos și mai evident (fig. 26, *b*).

Experiența nr. 25

OBSERVAREA CELULELOR VII ȘI MOARTE ÎN CÎMP MICROSCOPIC ÎNTUNECOS

Se montează un fragment de epidermă de pe frunzele modificate de la bulbul de ceapă *(Allium cepa)*, pe o lamă, în apă de conductă. Epiderma nu trebuie să aibă bule de aer, nici resturi de mezofil. Se așază preparatul la un microscop utilat cu un condensor cu cîmp întunecat. Se observă următorul tablou. Membranele celulare anticlinale sînt strălucitoare, dar la o reglare corectă a condensorului nu impiedică observarea straturilor parietale periclinale ale protoplasmei și a cordoanelor plasmatice. Citoplasma apare optic vidă, adică întunecată. Microsomii se detașează ca puncte foarte luminoase. Nucleul apare argintiu și prezintă diferite structuri granulare. Folosind un obiectiv cu imersiune, a cărui diafragmă se închide pînă la obținerea unui fond negru perfect, se observă de asemenea că protoplasma apare optic vidă. Microsomii, condriosomii și leucoplastele apar de asemenea optic vide, putîndu-se observa numai contururile lor argintii strălucitoare. Tot acest tablou este schimbător, deoarece organitele observate sînt antrenate de curenții protoplasmatici. Existența acestor curenți este dovada faptului că protoplasma este vie.

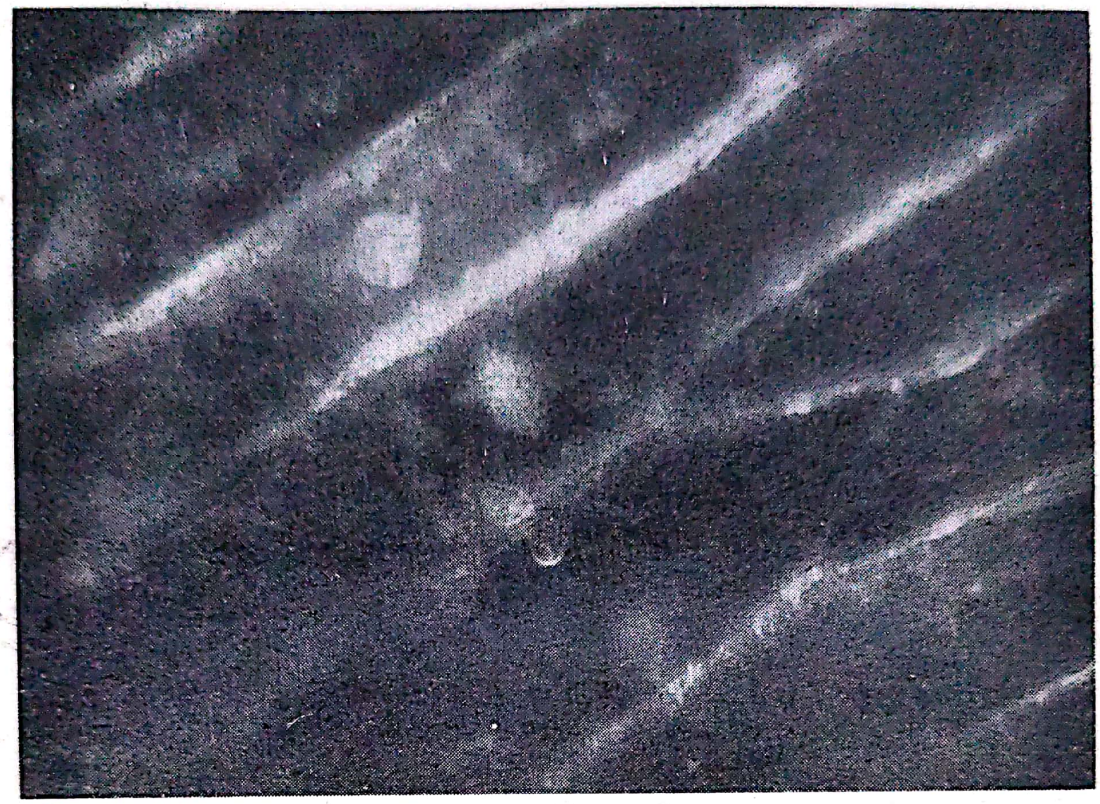
Dacă se omoară protoplasma introducînd sub lamelă acid clorhidric 5% (reactivul 4 *g*), se observă imediat următoarele schimbări: se oprește orice mișcare intraplasmatică; omogenitatea optică a citoplasmei dispare, observîndu-se o strălucire generală a structurilor granulare de coagulare, în care nu se mai disting microsomii și condriosomii. Nucleii capătă o strălucire mai puternică (fig. 27, *a* și *b*).

Experiența nr. 26

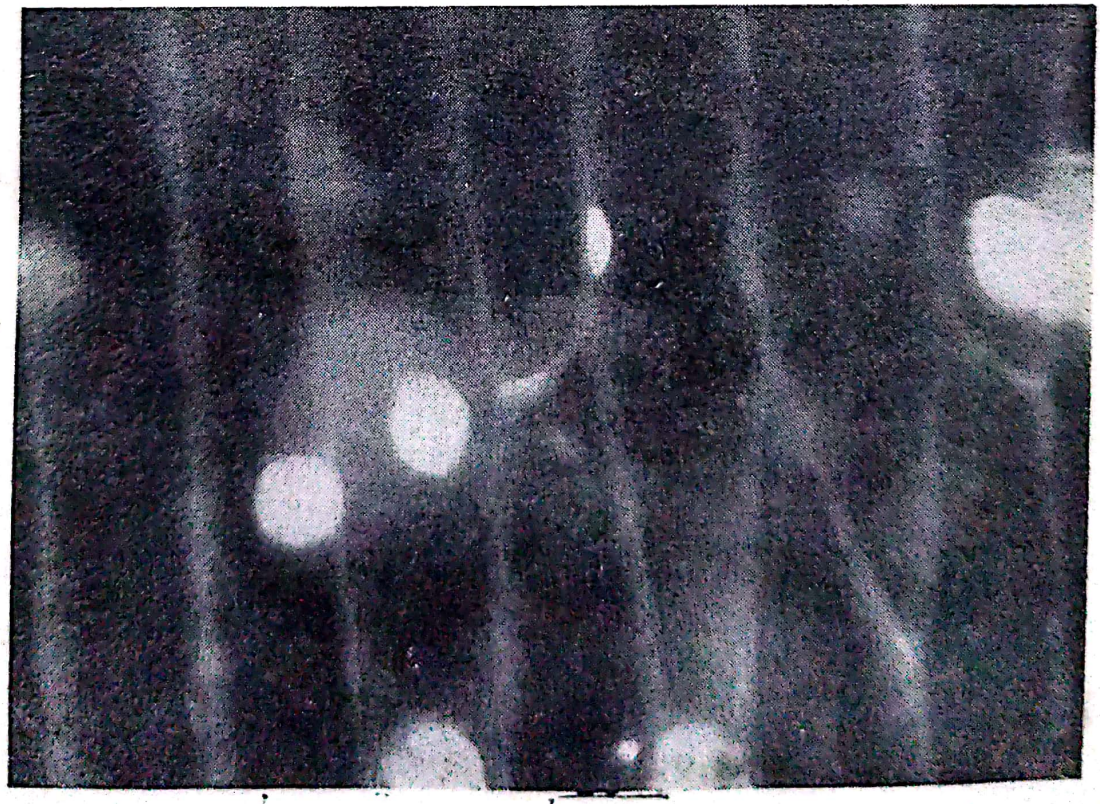
OBSERVAREA CELULELOR VII ȘI MOARTE ÎN CONTRAST DE FAZĂ

În paragraful despre tehnica microscopică s-au arătat avantajele observării preparatelor vii transparente în contrast de fază, procedeu prin care diferențele de indice de refracție, aproape imperceptibile la microscopul cu cîmp luminos (ceea ce s-a sesizat la observare în cîmp luminos), se transformă în diferențe de intensitate luminoasă, iar detaliile apar ca structuri, și nu ca puncte cu refringența schimbată.

Scanned with OKEN Scanner



a



b

Fig. 27. Observarea celulelor vii și moarte în cîmp microscopic întunecos:
a — celule vii; *b* — celule moarte.

Scanned with OKEN Scanner

Dacă se observă la microscopul cu contrast de fază bine centrat o epidermă de pe frunza de ceapă, montată în apă de conductă, folosind obiectivul de imersiune 90 x cu apertura 1,25, apare următorul tablou (fig. 28 *a, b*). Substanța fundamentală a citoplasmei apare gri luminos, contrastînd puternic față de structurile înconjurătoare. Foarte clar se conturează cordoanele citoplasmatice care traversează vacuola. Microsomii apar ca formațiuni bine conturate, întunecate. Condriosomii și leucoplastele, abia sesizabile în cîmp luminos și întunecat, în optica cu contrast de fază apar ca formațiuni omogene gri și chiar gri-închis. Cele mai fine filamente care pleacă de la condriosomi și plastide în curenții citoplasmatici sînt bine vizibile. Nucleul apare de culoare închisă, putîndu-se observa clar nucleolii și cromonema. Schimbările structurale ce apar după omorîrea protoplasmei cu acid clorhidric 5% (reactivul 4 *g*), introdus sub lamelă, apar cu mult mai clar dacă sînt privite în optica cu contrast de fază decît ar apărea în optica cu cîmp luminos sau întunecat.

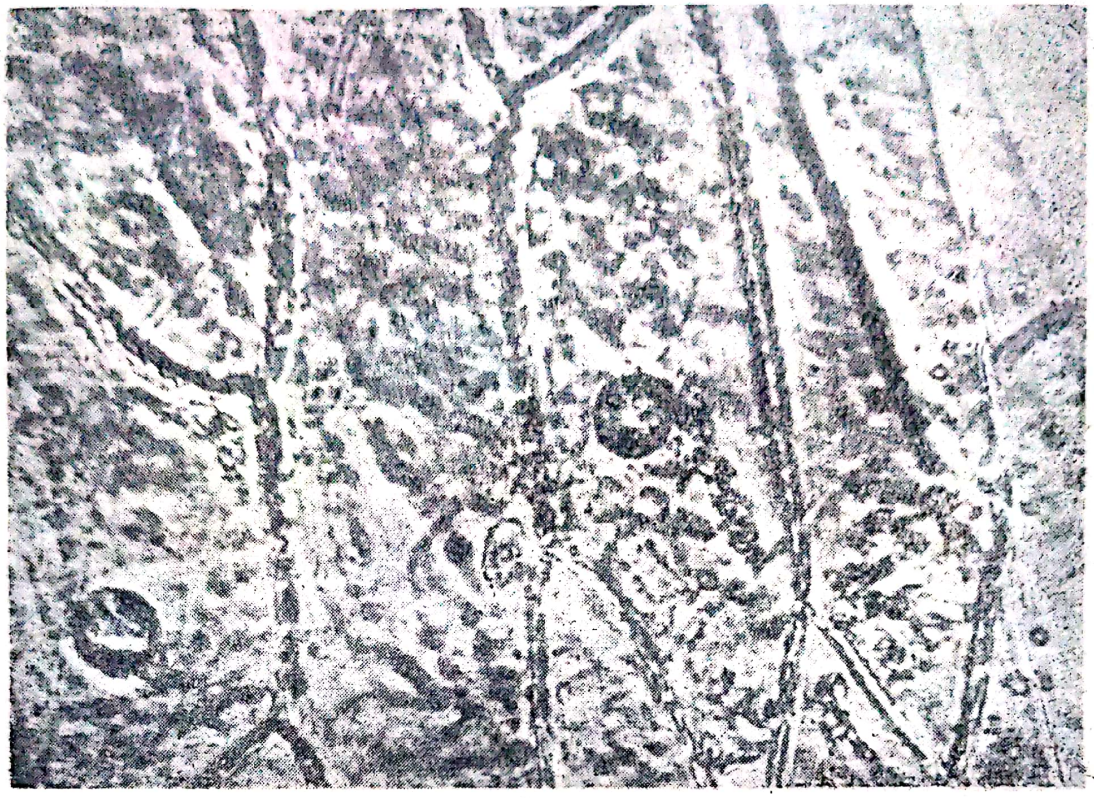
Experiența nr. 27

NUCLEUL VIU ÎN STARE DE REPAUS

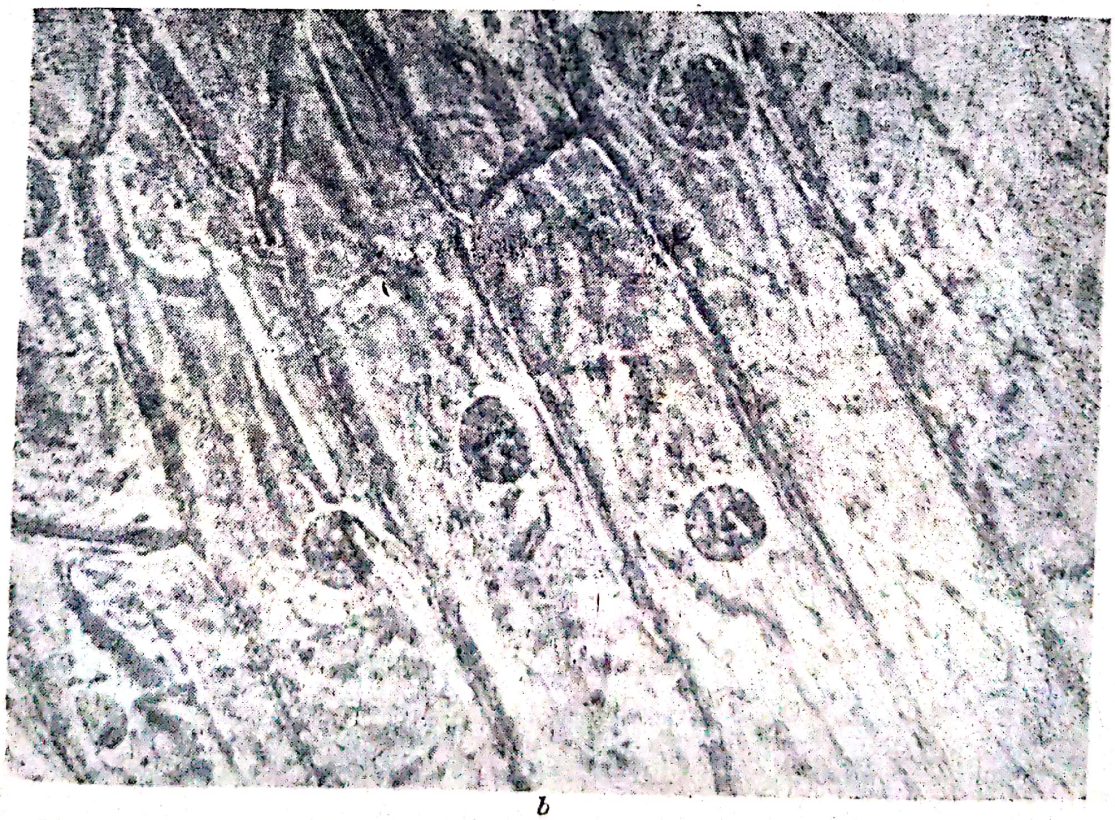
S-a arătat că la cercetarea în cîmp luminos sau întunecat a nucleilor celulari în stare de repaus (în perioda dintre două diviziuni) aceștia apar de obicei optic omogeni. Dar din punct de vedere teoretic, omogenitatea optică nu trebuie identificată cu lipsa de structură. Este suficient ca cromonema să aibă aceeași transparență cu cariolimfa, și nucleul va apărea perfect omogen. Fixînd și colorînd un asemenea nucleu, iese în evidență structura sa reticulară. Dar acest fapt nu dovedește existența structurii și în stare vie. Colorarea vitală a nucleilor cu oranj de acridină 1/10 000, care aplicat cu atenție nu schimbă cu nimic procesele vitale intracelulare, dovedește existența unei structuri fine în nucleul optic omogen.

a) *Observarea nucleilor vii în cîmp luminos.* Cu ajutorul unui bun obiectiv de imersiune, se observă nucleii în celulele frunzelor de *Elodea*. Nucleii posedă o omogenitate optică perfectă, tipică, din care se detașează doar nucleolii. Continuînd observația, se introduce printr-o parte a lamelei, trăgînd cu o hîrtie de filtru de partea opusă, o soluție alcoolică saturată de acid picric (fixator histologic — reactivul 7). În momentul fixării, apare dintr-o dată structura nucleară. Pentru observarea de nuclei cu structură vizibilă, se montează în mod obișnuit și se observă cu un obiectiv de imersiune o epidermă de pe frunzele modificate de la bulbul de ceapă (fig. 29). Nucleii, vizibili ca discuri sau solzi, posedă o fină stuctură granulară (reticulum). Dacă în timpul observării se fixează un asemenea nucleu, structura lui devine ceva mai evidentă, dar fără schimbări esențiale ale aspectului. Se observă pe suprafața nucleului șanțuri fine, ceea ce îi dă un aspect zbîrcit.

Scanned with OKEN Scanner



a



b

Fig. 28. Observarea celulelor epidermei superioare de pe frunzele modificate ale bulbului de *Allium cepa:*
a — în contrast de fază; *b* — în câmp luminos.

Scanned with OKEN Scanner

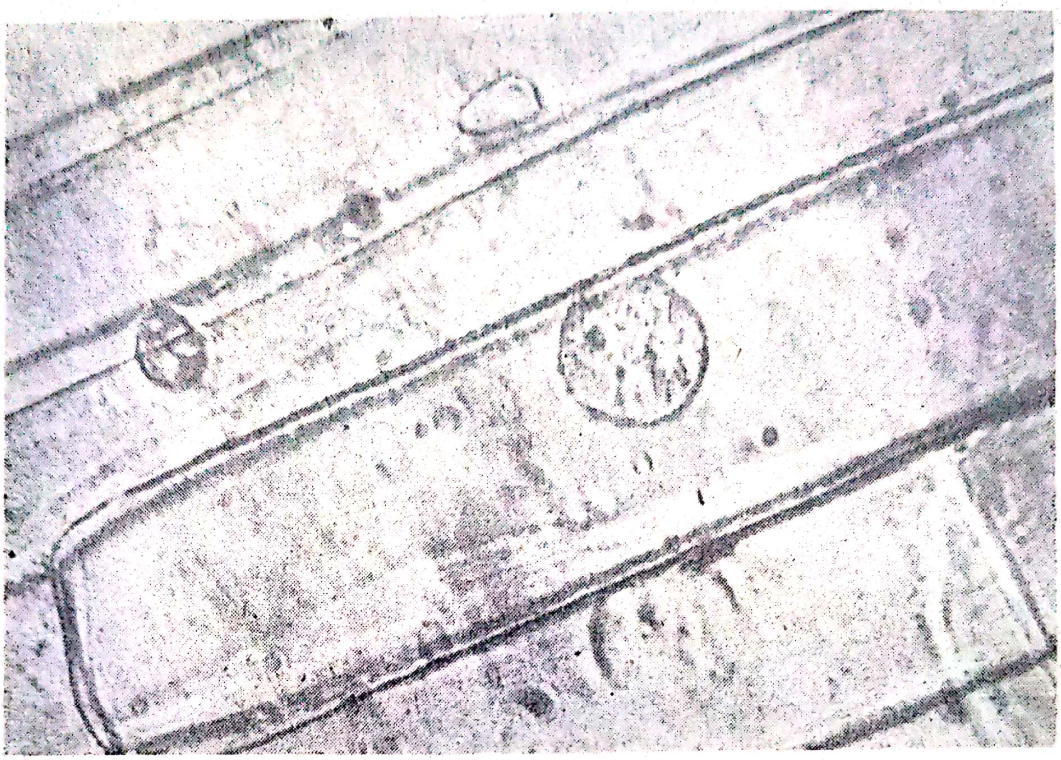
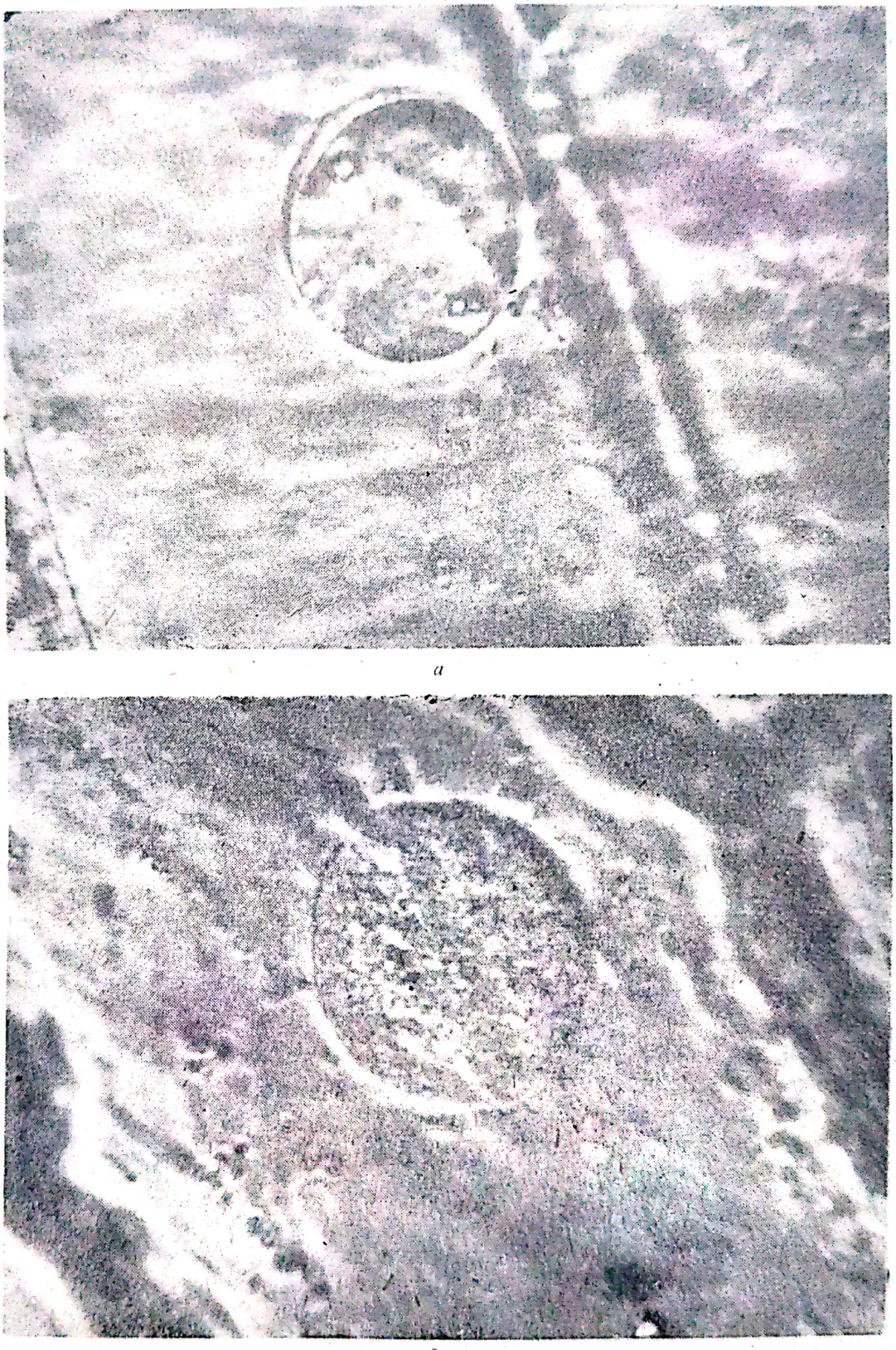


Fig. 29. Observarea nucleului viu în stare de repaus, în celulele epidermei superioare a frunzelor modificate de la bulbul de *Allium cepa*, în cîmp luminos.

b) *Observarea nucleilor în cîmp întunecat.* Se folosește același material care trebuie observat cu obiectivul de imersiune la un ultramicroscop cu condensor cardioid. Se va observa următorul tablou (fig. 30). Membrana nucleară apare clar ca o linie luminoasă. Cromonema reticulară (reticulum) apare ca o structură luminoasă argintie. Dacă se omoară celulele cu ajutorul acidului clorhidric 5% (reactivul 4 *g*) introdus sub lamelă, prezența rețelei este la fel de evidentă, dar aspectul ei este întrucîtva denaturat. Spațiile devin mai mari, iar rețeaua mai grosieră. Acest aspect este observabil și în cîmp luminos și se întîlnește adesea și cînd materialul a fost prost fixat.

Fig. 30. Observarea nucleului viu în stare de repaus, în celulele epidermei superioare a frunzelor modificate de la bulbul de *Allium cepa*, în cîmp întunecat.

c) *Observarea nucleilor în contrast de fază.* Se folosește același material vegetal, montat în apă la un microscop cu contrast de fază, folosind obiectivul de imersiune. Fără nici o colorare se văd clar structurile care conțin acid nucleic: cromonema, nucleolii și cromosomii (fig. 31). Nucleii apar ca discuri întunecate cu membrana nucleară ca o linie



a

b

Fig. 31. Observarea nucleului în contrast de fază :
a — nucleu viu ; *b* — nucleu mort.

Scanned with OKEN Scanner

aproape neagră limitantă. Foarte evident apar șanțurile fine de pe membrană. Nucleolii ies în evidență ca structuri de culoare închisă. Cromonema reticulară se prezintă bine delimitată, implîntată în cariolimfă, care apare complet luminoasă (lipsită de contrast). Structurile care conțin acizi nucleici (cromomerele) se văd ca grăunțe întunecate dispuse în rețea spațială.

2. STUDIUL PLASMOLIZEI ȘI TURGESCENȚEI

Experiența nr. 28

HIPOTONIE, IZOTONIE ȘI HIPERTONIE

Se iau 3 cristalizoare; în primul se introduce o cantitate oarecare de apă, în al doilea și al treilea NaCl 20% (fig. 32). De asemenea, se iau 3 tuburi de intestin lungi de cîte 10 cm. Se leagă un tub la un capăt cu sfoară și se umple tubul cu NaCl 20%, se închide și celălalt capăt cu sfoară, avînd grijă să nu rămînă nici o bulă de aer în „celulă". Se spală la exterior de resturile de sare și se introduce în primul cristalizor. În al doilea cristalizor se introduce al doilea tub de intestin, plin cu NaCl 20%, iar în al treilea cristalizor se pune al treilea tub de intestin, plin cu apă. Se lasă în repaus cîtva timp (1—2 ore), cînd se pot lua rezultatele. În cristalizorul 1, apa din mediul extern va fi atrasă printr-un curent endosmotic de NaCl 20% din interiorul „celulei". „Celula" se va umfla și va ajunge în stare de *turgescență*. Apa, în acest caz, se consideră a fi o soluție *hipotonică* față de concentrația soluției din interiorul tubului, care este *hipertonică* față de apă. În al doilea cristalizor, „celula" rămîne în starea inițială, deoarece atît soluția internă cît și cea externă au aceeași concentrație, adică sînt *izotonice*. În al treilea cristalizor, apa din interiorul tubului de intestin va ieși afară, determinată de un curent osmotic. În urma acestui fapt, „celula" se zbîrcește, pierde apa și ajunge în stare de *plasmoliză*.

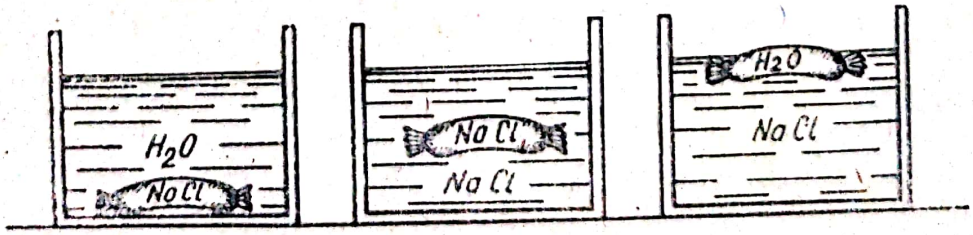


Fig. 32. Hipotonie, izotonie și hipertonie.

Experiența nr. 29

PLASMOLIZA ȘI DEPLASMOLIZA, FORME ȘI TIMP

Plasmoliza și deplasmoliza celulelor vii se pot observa la epiderma frunzelor modificate ale bulbului de ceapă *(Allium cepa)*, provocate cu o soluție de KNO_3 1 *M* (reactivul 17). Se desprinde o porțiune de epidermă și se montează pe o lamă la microscop într-o picătură de KNO_3 1 *M*. Pentru a înțelege plasmoliza, trebuie să ne imaginăm că celula vie funcționează ca un sistem osmotic, în care plasmalema, citoplasma, tonoplastul funcționează ca o membrană cu semipermeabilitate selectivă, iar sucul vacuolar — ca lichid osmotic. Membrana scheletică celulozică este permeabilă pentru săruri și nu intervine în schimbul osmotic. Cînd celula se introduce în soluție hipertonică de KNO_3, ea pierde apa, vacuola se contractă și protoplastul se desprinde de membrana celulozică. La început, protoplastul se desprinde de membrana celulozică numai de pe anumite porțiuni, rămînînd prins în rest. Aceste desprinderi au formă concavă. Această fază a plasmolizei se numește plasmoliză inițială, iar după formă, plasmoliză concavă (fig. 33). În continuare, protoplastul se desprinde total de membrană, luînd formă sferică sau lenticulară. Este faza finală de plasmoliză sau, după formă, plasmoliza convexă. În cazul KNO_3 1 *M*, faza concavă se obține în 2—3 minute de la montare, ca după aproximativ 15 minute să se treacă la stadiul final de plasmoliză.

Deplasmoliza celulară. După observarea stadiului final de plasmoliză, dacă se înlocuiește cu precauție soluția de KNO_3 cu apă de conductă (punînd o picătură de apă pe marginea lamelei și absorbind de cealaltă parte cu hîrtia de filtru), vacuola, avînd un suc celular concentrat, va suge apa și protoplastul revine, lipindu-se de membrana celulozică. Celula își recapătă aspectul inițial; ea este vie, căci, introducînd-o din nou într-o soluție hipertonică, plasmolizează.

Experiența nr. 30

INFLUENȚA ELECTROLIȚILOR ASUPRA FORMEI ȘI TIMPULUI DE PLASMOLIZĂ

a) *Influența cationilor.* Influența electroliților asupra protoplasmei vii se poate pune în evidență cercetînd formele plasmolizei. În felul acesta se vede antagonis-

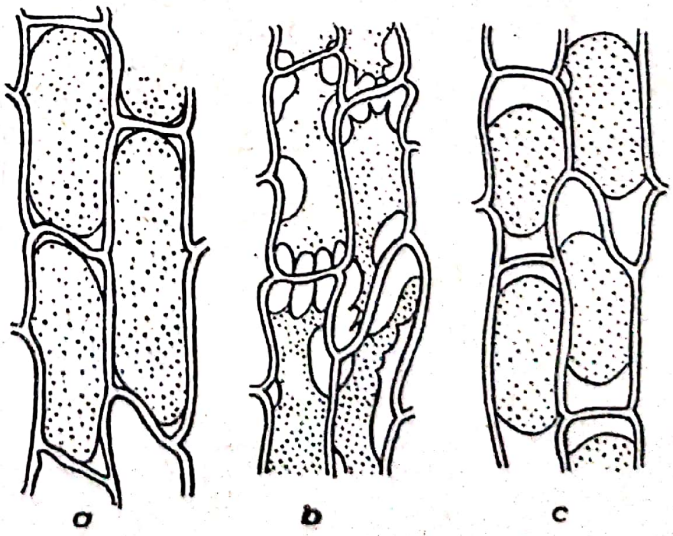


Fig. 33. Formele plasmolizei :
a — plasmoliza inițială; *b* — plasmoliza concavă; *c* — plasmoliza convexă.

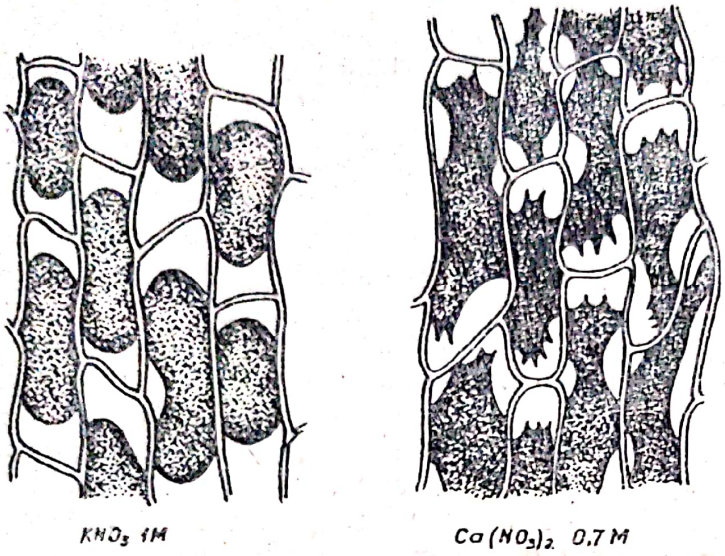


Fig. 34. Influenţa electroliţilor asupra formei şi timpului de plasmoliză — influenţa cationilor.

mul ionilor metalici asupra biocoloizilor plasmatici. Pentru a arăta această influenţă, ne servim de o soluţie de KNO_3 1 *M* (reactivul 17) şi o soluţie 0,7 *M* de $Ca(NO_3)_2$ (reactivul 16). În cazul de faţă variază cationii, anionul fiind acelaşi. Se montează dintr-o dată pe două lame fragmente de epidermă de pe frunzele modificate de la bulbul de ceapă, în cîte o picătură din aceste soluţii. Pentru păstrarea titrului soluţiilor se parafinează marginile lamelelor. În soluţia de KNO_3, după 2—3 minute, se obţine o plasmoliză concavă, ca după circa 15 minute să se treacă în plasmoliză finală. În soluţia de $Ca(NO_3)_2$, după cîteva minute, se observă o plasmoliză concavă, care ţine aproape 1 oră. Abia după 1 oră pînă la 2—3 ore, majoritatea celulelor trec în plasmoliză finală şi chiar în acest moment protoplasma nu are un contur lin, ci prezintă asperităţi. Prin rezultatele obţinute se dovedeşte antagonismul acestor ioni de K^+ şi Ca^{++}. Potasiul influenţează asupra protoplasmei, hidratînd-o, făcînd-o mai fluidă; calciul, din contra, măreşte vîscozitatea protoplasmei, care-şi păstrează mai mult timp aspectul neregulat (fig. 34).

b) *Influenţa anionilor*. Se folosesc soluţii de KNO_3 1 *M* (reactivul 17) şi KSCN 1 *M* (reactivul 71), iar ca material, epidermă de pe frunzele modificate de la bulbul de ceapă. În soluţia de KNO_3 se înregistrează la început o plasmoliză concavă, care, după aproximativ 15 minute, trece în plasmoliză

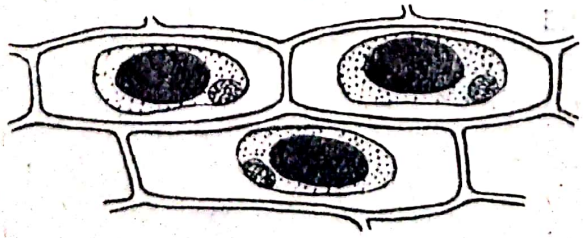


Fig. 35. Plasmoliza celulelor vii sub influenţa KSCN.

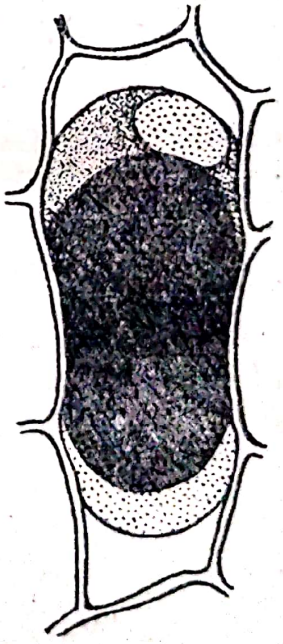


Fig. 36. Plasmoliza în calotă.

finală. În soluţia de KSCN, timpul de plasmoliză este nul, trecîndu-se imediat la plasmoliză finală (fig. 35). Sub influenţa radicalului SCN, protoplasma devine foarte fluidă; pe lîngă aceasta, radicalul SCN mai are şi o acţiune de dezorganizare a protoplastului dacă celulele stau mai mult timp în soluţie. Dacă se observă acest preparat după 10—30 minute, se va constata că protoplastul începe să crească sub formă de calotă la cei doi poli, fără a se umfla şi în părţile laterale. Această formă de plasmoliză se numeşte plasmoliză în calotă (fig. 36). Fenomenul se datoreşte faptului că KSCN dezorganizează protoplastul, care începe să se îmbibe şi se umflă pînă atinge membrana celulozică. Este o deplasmoliză anormală, datorită dezorganizării protoplastului. Vacuola însă rămîne contractată. Este faza numită plasmoliza tonoplastului sau stadiul de separare vacuolară. Acest fenomen demonstrează rezistenţa tonoplastului la acţiunea nocivă a KSCN faţă de plasmalemă, care se dezorganizează mai repede, ca urmare a structurii submicroscopice deosebite a acestor două membrane.

Experienţa nr. 31

PLASMOLIZA UNILATERALĂ

Este un caz particular de plasmoliză, înregistrat pentru prima dată la briofite de către cercetătoarea sovietică V. A. Brilliant. Se studiază la frunzele unor specii de *Mnium*. Într-o picătură de KNO_3 1 M (reactivul 17) se montează la microscop o frunză de *Mnium*. Se poate observa că, după aproximativ 15 minute de la montare, conţinutul celulelor a plasmolizat, strîngîndu-se pe peretele opus celulelor mediane, cu rol de conducere. Membranele externe ale celulelor frunzelor de *Mnium*, *Catharinea* etc. prezintă un înveliş impermeabil de cutină. Azotatul de potasiu pătrunde în frunze pe calea celulelor conducătoare şi de aici difuzează de o parte şi de alta a limbului, producînd în celule o plasmoliză unilaterală, determinată de curentul de difuziune (fig. 37)

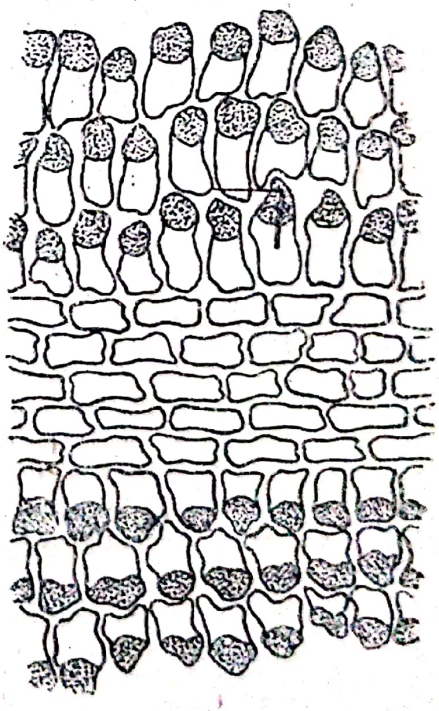


Fig. 37. Plasmoliza unilaterală.

Experienţa nr. 32

PLASMOLIZA SISTROFICĂ

Cel mai adesea, plasmoliza se realizează introducînd celulele vii în soluţii hipertonice. Pentru evitarea acţiunii dăunătoare a plasmolizei, concentraţia trebuie

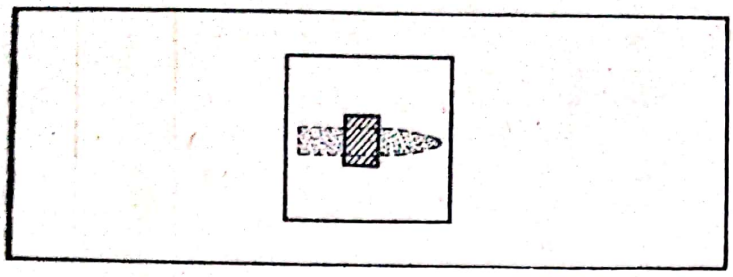


Fig. 38. Schema metodei de plasmolizare prin contact.

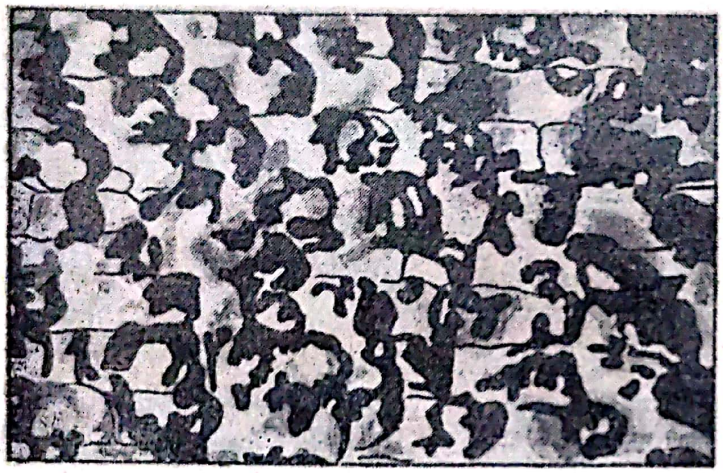


Fig. 39. Plasmoliza sistrofică.

să crească treptat. Cu cît creşte mai treptat concentraţia soluţiei externe, cu atît este mai mică traumatizarea celulei. Aceasta se realizează pe două căi: pe calea trecerii succesive a obiectului în soluţii cu o creştere cît mai treptată a concentraţiei şi pe calea plasmolizei în contact cu un gel care conţine substanţa plasmolitică. Întrucît al doilea mod de lucru dă posibilitatea ridicării concentraţiei absolut treptat, trebuie considerat ca mijlocul cel mai indicat. Ca material se folosesc frunze de *Elodea*. Ca plasmolitic se foloseşte un gel de agar 2% sau gelatină 10%, preparat cu o soluţie de KNO_3 1 *M* (reactivul 17), turnat într-un strat de 1—2 mm pe fundul unei cutii Petri. Se ia o frunză matură de *Elodea*, se zvîntă atent cu hîrtia de filtru pe ambele părţi şi se acoperă cu o plăcuţă de gel plasmolizant 2/4 mm (fig. 38). Pentru evitarea uscării frunzei se acoperă cît mai repede cu ulei de parafină şi deasupra se pune o lamelă. Imediat se trece la observarea cu microscopul obişnuit sau mai bine la ultramicroscop. Începînd din locul acoperit cu gelatină, în celulele frunzelor se produce o contractare progresivă plasmolitică a protoplaştilor. Ea merge încet şi continuu, pe măsura creşterii concentraţiei KNO_3, ca urmare a difuzării lui prin sistemul de membrane. Celulele plasmolizează totdeauna din partea îndreptată spre plăcuţa de gel (fig. 39). Plasmoliza începe cu forme convexe, cuprinzînd treptat toată suprafaţa frunzei. În felul acesta, KNO_3 se răspîndeşte uşor în ţesutul frunzei prin sistemul capilar submicroscopic din interiorul membranelor celulare. La plasmoliza treptată se observă următoarele fenomene caracteristice. La început, cicloza este puternic stimulată; mai tîrziu, cînd contractarea plasmolitică şi scoaterea osmotică a apei s-au oprit, cicloza se opreşte. Urmează apoi stadiul de *sistrofie plasmolitică*. Aceasta se caracterizează prin aceea că mişcările locale ale plasmei adună cloroplastele izolate într-un aglomerat compact, lîngă nucleu. Imediat lîngă plăcuţa de gelatină, fenomenul nu se observă. El apare numai după cîteva şiruri de celule. Această experienţă dovedeşte că deplasarea sărurilor în ţesuturi

se poate face la distanţe mari, prin sistemul capilar submicroscopic al membranelor.

Experienţa nr. 33

CITORIZA CA URMARE A IMPERMEABILITĂŢII MEMBRANEI PENTRU PLASMOLITIC

La frunzele tinere de *briofite*, ca *Mnium splendens*, membrana celulară externă este permeabilă pentru apă, dar aproape impermeabilă pentru zaharoză. Dacă se introduce o plantă de *Mnium* într-o soluţie de zaharoză 1,5 *M* (reactivul 73 *b*), membrana celulelor împiedică moleculele de zaharoză să pătrundă în interior. Totuşi, apa din conţinutul celular este atrasă în afară de concentraţia mare a zaharozei. În felul acesta, celulele pierd apa şi se ridează. Dacă se montează pe o lamă la microscop într-o picătură de zaharoză 1,5 *M* o frunză de la o plantă de *Mnium* ce a stat 30—60 minute în acest plasmolitic, se poate observa fenomenul de citoriză. Fenomenul este analog cu pierderea apei atunci cînd se usucă frunzele de briofite. Ele se zbîrcesc fără ca protoplastul să se desprindă de membrană. Trecînd planta din nou în apă, citoriza dispare şi celulele îşi revin din nou la normal (fig. 40).

Experienţa nr. 34

SUBSTANŢE OSMOTIC ACTIVE ŞI OSMOTIC INACTIVE

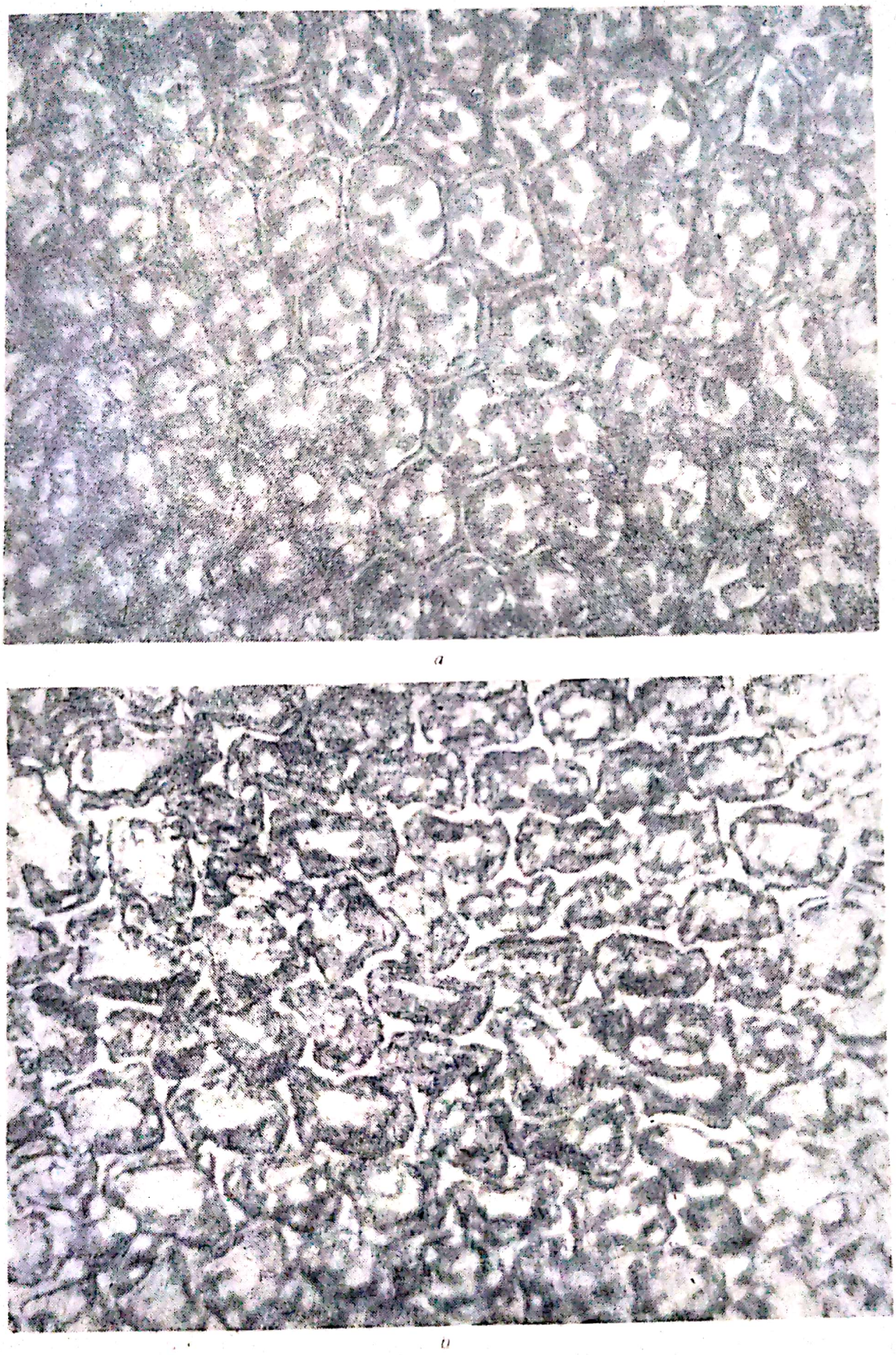
Se iau doi morcovi egali, se scobesc cîţiva centimetri la partea îngroşată. În scobitura unuia din morcovi se introduce NaCl cristalizat, iar în scobitura celuilalt, amidon. După 1—2 zile se va observa că morcovul în care s-a pus NaCl s-a zbîrcit, a plasmolizat. Celălalt rămîne în starea iniţială de turgescenţă. Clorura de sodiu, fiind o substanţă osmotic activă, atrage apa din ţesuturi, plasmolizîndu-le. Amidonul este o substanţă osmotic inactivă şi nu va provoca plasmoliza ţesuturilor.

Experienţa nr. 35

DETERMINAREA CONCENTRAŢIEI SUCULUI VACUOLAR PRIN METODA REFRACTOMETRICĂ

Stabilirea concentraţiei sucului vacuolar are importanţă pentru calcularea presiunii osmotice şi a forţei de sucţiune a ţesuturilor vegetale. Metoda refractometrică este mai rapidă decît alte metode pentru determinarea acestor indici fiziologici importanţi. Se ia materialul vegetal de cercetat (frunze, muguri, fragmente de rizocarpi, tuberculi etc.) şi se extrag cîteva picături de suc. Extracţia se poate face prin mojarare sau prin presare cu un cleşte special, într-un timp cît mai scurt, pentru a împiedica concentrarea sucului prin evaporare. Se pun

Scanned with OKEN Scanner



a

b

Fig. 40. Citoriza celulelor de *Mnium splendens*, în soluție 1,5 *M* de zaharoză : *a* — celule în stare normală ; *b* — celule citorizate.

Scanned with OKEN Scanner

între prismele refractometrului cîteva picături de suc şi se citeşte indicele de refracţie; la refractometrele cu scale paralele se poate citi direct concentraţia, în procente de glucide simple. Pentru folosirea refractometrului, se vor consulta instrucţiunile de la anexa II.

Experienţa nr. 36

MĂSURAREA PRESIUNII OSMOTICE CU AJUTORUL SOLUŢIILOR IZOTONICE (METODA HUGO DE VRIES)

Ca material se poate folosi epiderma de pe frunzele modificate de ceapă *(Allium cepa)*, iar ca soluţie iniţială, o soluţie de zaharoză 1 *M* (reactivul 73 *c*), din care se pregătesc volumetric 6 soluţii de următoarele concentraţii: 0,46; 0,48; 0,50; 0,51; 0,52 şi 0,53 *M*. Aceste soluţii se pun în sticle de ceas, pe capacele cărora se va indica concentraţia. Se desprind apoi segmente de epidermă de pe aceeaşi paralelă şi de pe aceeaşi frunză modificată de la bulbul de ceapă şi se introduc cîte două în fiecare sticlă de ceas. Se va avea grijă ca fiecare segment să se cufunde bine în soluţia respectivă. Segmentele se lasă în soluţie timp de 1 oră. După acest timp se cercetează la microscop pentru a se stabili în care din soluţii se observă începutul plasmolizei, marcat prin deplasarea protoplastului numai la colţurile celulelor. Pentru a considera că pe un anumit segment de epidermă se întîlneşte începutul de plasmoliză, trebuie ca aproximativ 50% din celule să arate acest început. Nu se vor lua în considerare soluţiile unde nu se înregistrează de loc plasmoliză şi soluţiile care vor produce o plasmoliză înaintată. Soluţia în care celulele arată începutul de plasmoliză (de exemplu, soluţia 0,51 *M*) se consideră izotonică cu sucul vacuolar, exercitînd aceeaşi presiune osmotică. Cunoscînd faptul că 1 mol de zaharoză solvit într-un litru de apă dezvoltă o presiune osmotică de 22,41 atmosfere, printr-o regulă de trei simplă se poate calcula valoarea presiunii osmotice a sucului vacuolar al celulelor cu care se lucrează.

Exemplu: Dacă 1 mol zaharoză dezvoltă . . . . . 22,41 atm

$$0{,}51 \text{ mol} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots x$$

$$x = \frac{22{,}41 \times 0{,}51}{1} = 11{,}4 \text{ atm}$$

Experienţa nr. 37

DETERMINAREA PRESIUNII OSMOTICE PRIN METODA CRIOSCOPICĂ

Metoda crioscopică de determinare a presiunii osmotice a sucului vacuolar se bazează pe proporţionalitatea care există între coborîrea punctului de congelare (Δ) şi concentraţia molară a soluţiilor.

Scanned with OKEN Scanner

Această metodă are la bază următoarele premise teoretice:

1) Dacă se dizolvă o moleculă-gram din oricare substanţă nedisociabilă în 1 000 ml de apă, punctul de congelare al solventului scade de la 0,00°C la —1,86°C (valoare teoretică).

2) Coborîrea punctului de îngheţ este proporţională cu concentraţia soluţiilor.

3) Soluţiile diverselor substanţe pot dezvolta pentru 1 gram-mol în 1 000 ml de apă, la 0°C, o presiune osmotică de 22,41 atmosfere.

Ţesutul de cercetat se mortifică printr-o scurtă încălzire la 100°C, apoi se presează la o presiune mare. Astfel se obţine sucul celular nemodificat din punct de vedere osmotic. După aceea, se determină punctul de congelare la crioscop şi se calculează valoarea osmotică, în moli sau atmosfere.

a) *Mortificarea materialului.* Circa 10 g de material proaspăt de cercetat se pun într-un vas de sticlă ce se închide bine şi se încălzeşte imediat într-o baie de apă la fierbere. Se recomandă utilizarea de vase de sticlă cilindrice, ce se pot astupa cu dop (fig. 41), care sînt introduse vertical $^3/_4$ din înălţimea lor în baia de apă, fiind în prealabil închise în vase de aluminiu cu capac ce se înşurubează. Se fierbe timp de 10 minute la flacără puternică, cu atenţie ca să nu pătrundă apă în vase.

b) *Obţinerea sucurilor de presare.* Materialul mortificat se înfăşoară într-o pînză rezistentă şi se presează la o menghină puternică între doi umeri de alamă cositoriţi (fig. 42). Sucul obţinut (sînt suficienţi cîţiva mililitri) se introduce cît mai repede posibil într-un vas închis, pentru a se evita modificările de concentraţie prin evaporare.

c) *Determinarea punctului de congelare.* Se utilizează un microcrioscop după Drucker—Burian, pentru a cărui umplere sînt suficienţi 1,5 ml de suc de presare. Crioscopul Drucker—Burian se compune

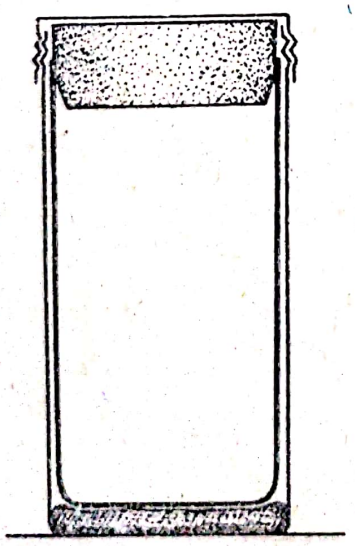


Fig. 41. Dispozitiv pentru mortificarea materialului vegetal.

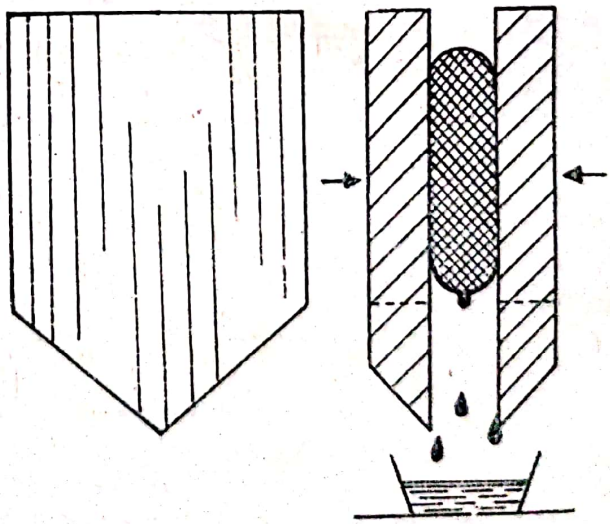


Fig. 42. Dispozitiv pentru obţinerea sucurilor prin presare.

Scanned with OKEN Scanner

dintr-un tub de înghețare astupat cu un dop prin care trec un termometru ce indică sutimile de grad (Beckmann) și un agitator inelar. Totul intră într-un tub mai larg, numit manta de aer (fig. 43). Se iau doi cilindri mari și se umplu cu amestec refrigerent (gheață cu sare). În centrul primului cilindru se introduce de la începutul experimentării mantaua de aer a crioscopului. Se introduc 1,5 ml de suc de presare în cilindrul de înghețare. Se implîntă rezervorul termometrului în suc în așa fel încît să nu atingă pereții vasului, fixîndu-se la dop. Astfel montat, tubul de înghețare se introduce în amestecul refrigerent din cilindrul al doilea și se răcește la —4°C, sub continuă agitare lentă (sucul nu trebuie încă să înghețe). În același timp se introduce pentru înghețare în amestecul de gheață o eprubetă cu un număr de capilare de sticlă, care au fost udate la capătul lor inferior cu o foarte mică cantitate de apă distilată. Acestea se vor folosi mai tîrziu cu capătul lor de gheață, pentru inițierea congelării. Tubul de îngheț răcit la —4°C se scoate din cilindrul al doilea se șterge repede și se suspendă în mantaua de aer în prealabil răcită din primul cilindru. Se introduce apoi timp de 1 secundă un capilar de inițiere a congelării în suc și se agită intens cu agitatorul inelar. Soluția răcită îngheață acum complet, căldura de înghețare se eliberează, iar temperatura sucului se ridică, menținîndu-se la o valoare maximă. Abia după ce s-a terminat formarea gheții mercurul începe să coboare din nou treptat. Se notează temperatura cea mai ridicată, ea reprezentînd punctul aproximativ de congelare al sucului. Se scoate tubul de congelare afară din mantaua de aer și se dezgheață conținutul din nou cu mîna. Se repetă apoi întregul procedeu, cu deosebirea că răcirea se face numai cu 1°C sub punctul de congelare aproximativ stabilit. Valoarea aflată acum (de cele mai multe ori este o valoare mai mare decît cea găsită anterior) poate fi considerată ca satisfăcătoare.

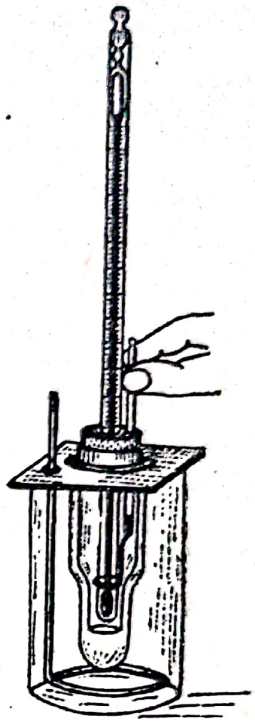


Fig. 43. Microcrioscopul Drucker — Burian.

Calculul rezultatelor. Pornind de la premisele teoretice enunțate mai sus, rezultă următoarea relație între scăderea punctului de congelare (△), găsită experimental, și valoarea presiunii osmotice, exprimată în atmosfere la temperatura de 0°C:

$$P_o = \frac{22{,}41}{1{,}86} \Delta = 12{,}04\ \Delta$$

Pentru a calcula potențialul osmotic la orice temperatură pozitivă, se înmulțește rezultatul calculat la 0°C cu un coeficient de corecție. Acesta reprezintă raportul între temperatura la care se va exprima po-

tenţialul osmotic şi temperatura de 0°C, ambele exprimate în scară absolută. Exemplu:

$$K = \frac{273 + t^0}{273}$$

atunci:

$$P_{20^0} = \frac{22{,}41}{1{,}86} K\,\Delta = \frac{22{,}41}{1{,}86} \cdot \frac{273 + 20}{273}\Delta = 12{,}04\,\frac{293}{273} = 12{,}04 \cdot 1{,}073\,\Delta$$

Experienţa nr. 38

MĂSURAREA FORŢEI DE SUCŢIUNE A CELULELOR DIN PARENCHIMUL DE CARTOFI (METODA G. E. PRINGSHEIM)

Procedeul cel mai folosit constă în măsurarea lungimii unor fişii înguste, tăiate din organele vegetale nelignificate şi introduse în soluţii de cele mai deseori de zaharoză, de diferite concentraţii. Presiunea osmotică a soluţiei în care lungimea fişiei rămîne neschimbată este egală cu forţa de sucţiune a celulelor. Valoarea forţei de sucţiune se exprimă, de asemenea, în atmosfere.

Dintr-un tubercul de cartof, cu ajutorul unui perforator de dopuri, se scot 6 segmente cilindrice, de aceeaşi grosime, cu lungimea de 50 mm. Aceste segmente se introduc în 6 eprubete. În prima eprubetă se toarnă apă. În a doua, soluţie 0,2 *M* zaharoză; în a treia, 0,4 *M* zaharoză; în a patra, 0,6 *M*; în a cincea, 0,8 *M*, şi în a şasea, soluţie 1 *M* de zaharoză. Aceste soluţii se pregătesc volumetric (prin diluare) dintr-o soluţie de zaharoză 1 *M* (reactivul 73 *c*). Rezultatul se ia după 12 ore. După acest timp se scot segmentele, se usucă uşor cu hîrtie de filtru, apoi se măsoară din nou. Se va constata că unele segmente au crescut în lungime, iar altele s-au scurtat. De exemplu, în apă segmentul a crescut la 52 mm, în soluţia 0,2 *M* la 51 mm, în soluţia 0,4 *M* a rămas de aceeaşi lungime (50 mm), în soluţia 0,6 *M* a scăzut la 49 mm, în soluţia 0,8 *M* la 48 mm, iar în soluţia 1 *M* la 46 mm. Lungirea segmentelor din primele eprubete se datoreşte faptului că soluţiile în care au stat au presiune osmotică mai mică decît forţa de sucţiune a celulelor parenchimatice. Datorită acestui fapt, în celule a pătruns apa şi, respectiv, segmentele devin turgescente. Soluţiile în care segmentele s-au scurtat dovedesc că au presiune osmotică mai mare decît forţa de sucţiune a celulelor. Aceste soluţii externe sînt hipertonice faţă de concentraţia sucului celular, celulele pierd apa şi ţesutul plasmolizează. În eprubeta cu zaharoză, 0,4 *M*, segmentul a rămas la lungimea iniţială. În acest caz, forţa de sucţiune a celulelor este egală cu presiunea osmotică a soluţiei externe. Soluţia 0,4 *M* este izotonică cu sucul celular.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru calcularea acestei presiuni ne servim de relaţia deja cunoscută, conform căreia o soluţie molară la 20°C manifestă o presiune osmotică de 22,41 atmosfere. Deci dacă:

1 mol de zaharoză dezvoltă . . . . . 22,41 atm
0,4 mol zaharoză x

$$x = \frac{0{,}4 \cdot 22{,}41}{1} = 8{,}9 \text{ atm}$$

Experienţa nr. 39

DETERMINAREA FORŢEI DE SUCŢIUNE A ŢESUTURILOR VEGETALE CU AJUTORUL REFRACTOMETRULUI (METODA ARŢIHOVSKI)

Principiul metodei constă în găsirea unei soluţii izotonice cu sucul vacuolar, ceea ce se stabileşte urmărind variaţia concentraţiei unor soluţii în care au stat fragmente de ţesut vegetal. Soluţiile de zaharoză îşi modifică concentraţia ca urmare a schimbului osmotic cu celulele ţesutului vegetal, dacă concentraţia acestora nu este izotonică. Deci, dintr-o serie de soluţii de concentraţii crescînde, în care stau fragmente egale din acelaşi ţesut vegetal, aceea care nu-şi schimbă concentraţia poate fi considerată izotonică cu sucul vacuolar. Pornind de la aceasta, se poate calcula, în atmosfere, forţa de sucţiune a ţesutului.

Pentru determinare se iau 10 eprubete. Dintr-o soluţie de zaharoză 1 *M* (reactivul 73 *c*) se fac diluţii de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8 şi 0,9 *M*. În fiecare eprubetă se pun 10 ml din cîte una din soluţiile pregătite, iar în ultima, aceeaşi cantitate din soluţia 1 *M*. Conţinutul fiecărei eprubete se împarte în două, obţinîndu-se astfel două şiruri de eprubete. În fiecare eprubetă a unui şir se introduce cîte un fragment din acelaşi ţesut vegetal şi se lasă să stea 40—60 minute. În acest timp, cu ajutorul unui refractometru, se determină cît mai precis concentraţiile din eprubetele fără ţesut (pentru folosirea refractometrului vezi anexa II). După 40—60 minute, se determină şi concentraţiile soluţiilor din eprubetele în care a stat ţesutul, apoi se compară cu concentraţiile iniţiale. Se va constata că la concentraţiile mari de zaharoză (hipertonice) soluţiile s-au diluat faţă de concentraţia iniţială, ca urmare a extragerii apei din ţesut; soluţiile hipotonice au devenit mai concentrate ca urmare a absorbţiei osmotice a apei de către ţesut. Soluţia la care nu se înregistrează nici o variaţie de concentraţie se va considera izotonică cu concentraţia sucului vacuolar al celulelor ţesutului. Forţa de sucţiune a ţesutului se va calcula după formula $P = RTCi$, în care P este forţa de sucţiune, în atmosfere; R — constanta gazelor, egală cu 0,0821; T — temperatura în scară absolută ($273 + t^0$); C — concentraţia izotonică găsită experimental; i — coeficientul izotonic. În cazul zaharozei, $i = 1$; în cazul electroliţilor care disociază, de exemplu NaCl, $i = 1{,}5$. În

experiența de față, dacă concentrația izotonică găsită este 0,5 *M* și temperatura mediului 25°C, aplicînd formula, se obține: $P = RTCi = 0{,}0821 \cdot 298 \cdot 0{,}5 \cdot 1 = 12{,}233$ atm.

Experiența nr. 40

DETERMINAREA FORȚEI DE SUCȚIUNE A ȚESUTURILOR VEGETALE PRIN METODA CURENȚILOR (METODA ȘARDAKOV)

Principiul metodei este cel din experiența anterioară. Deosebirea constă în faptul că schimbările de concentrație se constată prin compararea densității soluției inițiale cu densitatea aceleiași soluții după ce a stat în ea țesutul vegetal. Se ia un șir de eprubete cu soluții de zaharoză în concentrații succesive de la 0,1; 0,2; 0,3 ... pînă la 1 *M*, pregătite volumetric (prin diluare) dintr-o soluție de zaharoză 1 *M* (reactivul 73 *c*). Se pregătește un șir paralel de eprubete și se pun în fiecare cîte 2 ml din soluțiile inițiale. În eprubetele din al doilea șir se introduce cîte un fragment de mărime egală din același țesut vegetal, se lasă 20—30 de minute, după care se pune cîte un cristal de albastru de metilen. Apoi, cu cîte o pipetă capilară se ia din fiecare eprubetă din al doilea șir cîte o coloană de 14—15 cm de lichid colorat și i se dă drumul cu atenție unei picături în centrul eprubetei corespunzătoare din primul șir. La concentrațiile mari, hipertonice, care s-au diluat în urma schimbului osmotic cu țesutul și și-au micșorat densitatea, se vor observa curenți ascendenți de lichid colorat. La eprubetele cu soluții hipotonice, care se concentrează în urma schimbului osmotic cu celulele, se vor observa curenți descendenți. În eprubeta în care soluția este izotonică cu sucul vacuolar din țesut, lichidul colorat introdus în soluția inițială va rămîne pe loc. Pornind de la valoarea concentrației acestei soluții, se poate calcula forța de sucțiune a țesutului după formula folosită în experiența precedentă.

3. PERMEABILITATEA CELULARĂ

Experiența nr. 41

SEMIPERMEABILITATEA STRUCTURILOR VEGETALE VII

a) *Semipermeabilitatea membranelor plasmatice ca atribut al celulelor vii.* Dintr-o rădăcină de sfeclă roșie, cu ajutorul unui perforator de dopuri, se scot cilindri lungi de 2 cm și cu diametrul de 1 cm. Aceste segmente se spală sub un curent de apă, apoi se introduc cîte unul în 5 eprubete care conțin fiecare 10 ml din următoarele lichide: în primele două, apă de robinet (conductă); în a treia, apă + 0,5 ml de

cloroform; în a patra, acid acetic 10% (reactivul 2 *c*), şi în a cincea, alcool etilic 50% (reactivul 10 *c*). Eprubeta a doua, cu apă de conductă, se fierbe timp de 3 minute pentru a omorî celulele. Se lasă eprubetele 1—2 ore în repaus, după care se iau rezultatele. Apa din prima eprubetă rămîne curată, căci celulele, fiind vii, nu permit ieşirea antocianului. În celelalte eprubete, lichidele se colorează în roşu, deoarece celulele au fost omorîte prin acţiunea temperaturii ridicate şi a substanţelor toxice, cloroform, acid acetic şi alcool etilic

b) *Semipermeabilitatea ţesuturilor vii* (după Lilienstern). În partea superioară a unei rădăcini de morcov sau sfeclă, cu ajutorul unui perforator de dopuri cu diametrul de 1—1,5 cm, se face o excavaţie de 2—3 cm adîncime. La această excavaţie se etanşează un dop de cauciuc prin care trece un tub subţire de sticlă. Partea inferioară a rădăcinii se taie pentru ca apa să aibă o cale mai liberă. Astfel pregătită, rădăcina se lasă 30 minute în apă pentru a se satura. După aceea, în excavaţie se toarnă un lichid osmotic activ, zaharoză 1—1,5 *M* (reactivul 73 *b* sau *c*), şi se astupă cu dopul de cauciuc la care s-a fixat tubul (fig. 44). Se marchează nivelul lichidului în tub, apoi se împlîntă rădăcina cu partea inferioară în apă. După circa ½ oră, se observă ridicarea lichidului în tub. Deoarece soluţia de zaharoză este concentrată, apa se deplasează spre ea prin protoplasma semipermeabilă a celulelor rădăcinii. Rădăcina, desigur, nu este un osmometru; totuşi, pune în evidenţă pătrunderea apei în celule pe cale osmotică. Paralel este bine să se monteze o experienţă identică cu rădăcinile omorîte prin îngheţare sau opărire, după ce s-a executat excavaţia. În acest caz, lichidul nu se va urca în tub, din contra, soluţia osmotic activă va trece în apa din vas ca urmare a permeabilităţii totale a celulelor moarte. Experienţa demonstrează semipermeabilitatea, proprietate care deosebeşte protoplasma vie de cea moartă.

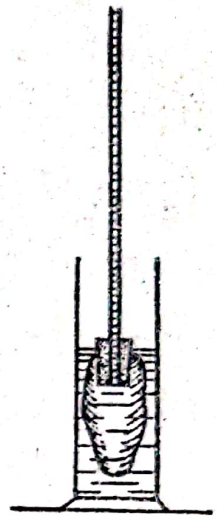


Fig. 44. Demonstrarea semipermeabilităţii ţesuturilor vii, după Lilienstern.

Experienţa nr. 42

COLORAREA VITALĂ A CELULELOR STOMATICE DE TRADESCANTIA

Celulele stomatice ale multor plante se colorează selectiv cu roşu neutru. Un bun material pentru demonstrarea acestui fapt sînt frunzele de *Tradescantia*. Se iau jumătăţi de frunze şi se infiltrează la vacuum cu soluţie de roşu neutru 1/10 000. După 10—20 de minute de stat în soluţie, se scot fragmentele şi se spală cu apă de robinet. Se ia o jumătate de frunză şi se aşază cu partea inferioară în sus pe o lamă la microscop în puţină apă. Colorarea evidentă a celulelor stomatice se observă chiar la o mărire mică. Dacă se lucrează cu imersiune în ulei, se observă acumularea colorantului în celule sub formă de picături

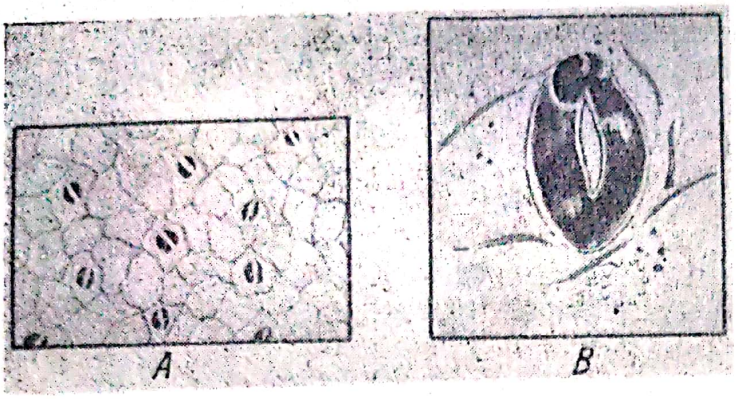


Fig. 45. Colorarea vitală a celulelor stomatice de *Tradescantia* :

A — observare cu un obiectiv slab ; *B* — observare cu un obiectiv puternic.

mari. Din cauza permeabilității selective, colorantul vital pătrunde numai în celulele stomatice. Restul celulelor epidermice nu se colorează, ca urmare a permeabilității reduse a membranelor plasmatice (fig. 45). Observațiile microscopice asupra țesutului foliar integral infiltrat la vacuum se pot face în condiții bune dacă se folosește o lampă de microscopie puternică.

Experiența nr. 43

INFLUENȚA ELECTROLIȚILOR ASUPRA PERMEABILITĂȚII CELULELOR VII. INFLUENȚA CATIONILOR K^+, Ca^{++} ȘI Al^{+++}

Se poate urmări această influență asupra permeabilității membranelor celulare la filamentele de *Spirogyra*. Se demonstrează acest lucru dacă se urmărește pătrunderea unui colorant vital în celule care stau în apă și în soluții de electroliți care conțin diverși cationi. Se iau 4 sticle de ceas. În fiecare se introduc cîte 2 ml de albastru de metilen în diluție de 0,1%. Cu ajutorul a 4 pipete gradate se introduc în prima sticlă de ceas 0,5 ml de apă, în a doua 0,5 ml de soluție KCl 0,1 *n* (reactivul 27 *c*), în a treia 0,5 ml $CaCl_2$ 0,1 *n* (reactivul 23 *b*) și în a patra 0,5 ml $AlCl_3$ 0,1 *n* (reactivul 22 *b*). Conținutul fiecărei sticle de ceas se omogenizează cu bagheta. După aceea, se introduce o cantitate mică de alge verzi în soluțiile respective. Rezultatul experienței se urmărește la microscop după 30 minute, 60 minute și chiar 4 ore. În acest scop se montează pe o lamă la microscop filamente de alge din fiecare sticlă de ceas. Se va constata că filamentele din prima sticlă de ceas vor avea majoritatea celulelor colorate cu albastru de metilen, în a doua sticlă de ceas se vor găsi mai puțin de 50% celule colorate, în a treia în general vor fi puține celule colorate și în a patra sticlă de ceas nu va exista nici o celulă colorată. Din rezultatele obținute se remarcă influența cationilor asupra permeabilității membranelor celulare vii, pe care o micșorează. Potasiul micșorează permeabilitatea față de apă, calciul mai mult, iar aluminiul reduce complet permeabilitatea: $H_2O < K^+ < Ca^+ < Al^{+++}$. Cationii reduc permeabilitatea membranelor plasmatice cu atît mai mult cu cît valența lor este mai mare.

Experiența nr. 44

PERMEABILITATEA CELULELOR VII PENTRU ACIZII SLABI ȘI TARI ȘI PENTRU BAZELE SLABE ȘI TARI

Se pregătesc soluții *n*/20 de HCl, CH_3COOH, KOH și NH_4OH. Se prepară mai întîi soluții *n*/10 (reactivii 4 *b*; 2 *b*; 39 și 37 *a*). Bazele se verifică prin titrare cu acid oxalic 0,1 *n* (reactivul 6 *a*), iar acizii față de KOH și apoi se diluează de două ori. Ca material experimental se folosește epiderma inferioară a frunzelor de *Rhoeo discolor*. În vacuolele acestor celule se găsesc pigmenți antocianici colorați violet. Se iau 5 sticle de ceas. În prima se pune apă, în a doua KOH, în a treia NH_4OH, în a patra HCl și în a cincea CH_3COOH, toate soluțiile în concentrație 0,05 normal. Toate sticlele de ceas se așază pe o hîrtie albă, iar ultimele patru se acoperă cu capacele respective, pe care se vor nota soluțiile. Cu ajutorul unei pense se ridică 10 fragmente de epidermă de pe fața inferioară a frunzei de *Rhoeo discolor*, cu suprafața aproximativă de 10—15 mm^2, și toate se introduc în sticla de ceas cu apă. Se iau apoi 2—3 fragmente și se pun în sticla de ceas cu KOH, mai multe în sticla de ceas cu NH_4OH și 2 rămîn în apă pentru comparație. Fragmentele din NH_4OH virează de culoare imediat. Culoarea violetă a antocianului din vacuoale trece în albastru. În fragmentul urmărit la microscop se va vedea că în decurs de 2 minute toate celulele trec din violet în albastru, începînd de la marginea fragmentului spre centru. În soluția de KOH, virarea de culoare se face mai încet. Se observă apoi la microscop că celulele de la periferia fragmentului devin albastre-verzi, iar spre centru rămîn tot roșu-violet. Abia după 10 minute, celulele din centru devin albastre. Fragmentele din NH_4OH, după ce au devenit albastre, se clătesc în sticla de ceas cu apă și se introduc jumătate din numărul fragmentelor în acid clorhidric și jumătate în acid acetic. Conținutul vacuolar din albastru va deveni roșu. Se montează pe o lamă aceste fragmente în soluțiile respective și se observă la microscop. Fragmentele din CH_3COOH se înroșesc cam după 4 minute, iar celulele din acid clorhidric se înroșesc mai greu, abia după aproximativ 8 minute. Aceste valori exprimate în timp reprezintă permeabilitatea membranelor plasmatice ale celulelor vii pentru acizii și bazele respective. Celulele vii sînt mai permeabile pentru acizii și bazele slabe și mai puțin permeabile pentru acizii și bazele tari. Membranele celulelor vii opun rezistență la pătrunderea acestor ultime substanțe. Pentru a se confirma că soluțiile cu care s-a lucrat n-au omorît țesutul, se plasmolizează celulele cu KNO_3 1 *M* (reactivul 17). Celulele plasmolizează și după ce au fost scoase atît din baze cît și din acizi.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 45

PLASMOPTIZA CELULELOR DE SPIROGYRA ÎN ALCOOL

Prin plasmoptiză se înţelege crăparea celulelor însoţită adesea de aruncarea bruscă din celulă a plasmei şi a sucului celular. Dacă din punct de vedere morfologic acest fenomen nu prezintă variaţii, fiziologic poate decurge în mai multe feluri. În felul acesta, într-o soluţie hipotonică celulele pot crăpa din cauze pur osmotice, datorită pătrunderii puternice şi bruşte a apei. Pentru algele marine şi tuburile polinice, acest caz este o regulă la trecerea lor în apă dulce. Dacă celulele din apă sînt trecute în alcool, care pătrunde repede, se obţine de asemenea o plasmoptiză. Astfel se ajunge la creşterea bruscă a presiunii interne, faţă de care rezistenţa pereţilor celulei nu mai este suficientă şi ca urmare celula explodează. Dacă se pun pe o lamă la microscop filamente de *Spirogyra* într-o picătură de alcool metilic 50% (reactivul 11 *b*), după scurt timp decurge o puternică umflare a celulelor, iar numeroase celule plesnesc aproape imediat, aruncînd conţinutul lor în afară.

BIBLIOGRAFIE

1. Brauner, L., *Pflanzenphysiologisches Praktikum*, II Teil, Iena, Verlag von Gustav Fischer, 1932.
2. Brugovitzky, Edit, *Növényélettani vizsgálatok*, Bukarest, Mezögazdasàgi és erdészeti állami könyvkiadó, 1957.
3. Chirilei, H., Puşcaş, M., Bărbat, I., *Manual de fiziologia plantelor*, Bucureşti, Litografia şi tipografia învăţămîntului, 1957.
4. Dorobanţu, N., Mavromati, E., Dvornic, V., Sili, E., *Îndrumător pentru lucrări practice de fiziologia plantelor*, Bucureşti, Institutul agronomic „Nicolae Bălcescu", Atelierele de material didactic, 1958.
5. Dumanski, V., *Coloizii*, Bucureşti, Editura de stat, 1949.
6. Duclaux, J., *Les colloïdes*, Paris, Edit. Gauthiers-Villars et Cie, 1922.
7. Françon, M., *Les grandes découvertes du XX-e siècle.*, Paris.
8. Ghenkel, P. A., *Fiziologhiia rastenii s osnovami mikrobiologhii*, Moscova, 1958.
9. Georgescu, C. C., Popovici, Sabina, *Îndrumar de lucrări practice la fiziologia plantelor*, Braşov, Litografia învăţămîntului, 1956.
10. Herout, V., Keil, B., Protiva, M., Hudlicki, M., Ernest, I., Gut, I., *Tehnica lucrărilor de laborator în chimia organică*, Bucureşti, Editura tehnică, 1958 (traducere din limba cehă).
11. Krafts, A., Karrier, H., Stoking, K., *Voda i eio znacenie v jizni rastenii*, Moskva, Izdatelstvo inostrannoi literaturî, 1951.
12. Lebedeva, M. N., *Manual practic de microbiologie*, Bucureşti, Editura de stat, 1948 (traducere din limba rusă).
13. Maximov, N. A., *Manual de fiziologia plantelor*, Bucureşti, Editura de stat pentru literatură ştiinţifică, 1951.
14. Maquenne, L., *Précis de physiologie végétale*, Paris, Editura Payot et Cie, 1922.

Scanned with OKEN Scanner

15. Moisescu, N., *Fiziologia vegetală experimentală*, București, Editura „Minerva", 1907.
16. Molliard, M., *Nutrition de la plante*, vol. I., Paris, Editura Gaston Doin, 1927.
17. Pöschl, Viktor, *Einführung in die Kolloidchemie*, Dresden und Leipzig, Verlag von Theodor Steinkopff, 1923.
18. Putilova, I. N., *Lucrări practice de chimie coloidală*, București, Editura tehnică, 1954 (traducere din limba rusă).
19. Sablon, Leclerc (du), *Le rôle de l'osmose en biologie*, Paris, Ed. Ernest Flammarion, 1920.
20. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., Miller, M. S., Anikeev, V. V., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, Sovetskaia nauka, 1958.
21. Strugger, Z., *Praktikum po fiziologhii rastitelnih kletok i tkanei*, Moskva, Izdatelstvo inostrannoi literaturî, 1953.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL II

REGIMUL DE APĂ AL PLANTELOR

de șef de lucrări OCTAV BOLDOR
candidat în științe biologice

1. APA DIN PLANTE

Cantitatea de apă din corpul plantelor reprezintă în general 70—80% din greutatea lor. Ea diferă însă în funcție de specie, putînd ajunge la multe alge pînă la 96—98%, în funcție de diferite organe, fiind mai mare, de pildă, în frunze și rădăcini decît în tulpini, iar în acestea mai mare decît în semințele coapte. De asemenea, cantitatea de apă depinde de vîrsta lor și este influențată de condițiile lor de viață.

Experiența nr. 46

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A PREZENȚEI APEI ÎN CORPUL PLANTELOR

Pentru punerea în evidență a apei din corpul plantelor se iau frunze, tulpini, rădăcini, fructe și semințe și se mărunțesc separat pe cîte o placă de sticlă uscată. Se pune o cantitate nu prea mare din materialul pregătit în cîte o eprubetă perfect uscată, în așa fel ca probele să ajungă la fundul acestora. După aceea se țin eprubetele în poziție înclinată deasupra flăcării unui bec de gaz, avînd grijă să nu se carbonizeze conținutul lor. În scurt timp se va observa că în apropierea gurii eprubetelor, unde sticla este mai rece, pereții acestora se aburesc, iar apoi apar pe ei picături de apă, care provin din materialele vegetale folosite pentru experiență.

Experiența nr. 47

DETERMINAREA CANTITĂȚII DE APĂ ȘI DE SUBSTANȚĂ USCATĂ DIN PLANTE

În mod obișnuit, rezultatele analizelor efectuate cu materialele vegetale se exprimă în procente față de greutatea substanței uscate, fapt ce impune ca înaintea analizelor să se determine umiditatea materialelor cu care se lucrează.

Pentru determinare se pun aproximativ 5 g de nisip de cuarț curat într-o fiolă de cîntărit și se așază apoi în interiorul ei o baghetă de sticlă, în poziție oblică, pentru ca să nu împiedice punerea capacului. Se pune apoi fiola deschisă (cu capacul așezat în poziție înclinată pe gîtul ei) într-un termostat la temperatura de 100—105°C. După un inter-

val de timp de 1—2 ore se scoate fiola din termostat și se introduce pentru răcire într-un exsicator în care se găsește clorură de calciu anhidră, care are însușirea de a absorbi vaporii de apă din aer și deci micșorează absorbția apei de către conținutul fiolei. După răcire (20—30 minute), se scoate fiola din exsicator, se închide cu capacul și se cîntărește cu o precizie de 0,0001—0,0002 g la o balanță analitică. După cîntărire se deschide fiola și se introduce din nou în termostat pentru o oră, iar după aceea se răcește în exsicator și se cîntărește. Dacă greutatea fiolei a rămas aceeași se trece la determinarea umidității materialului vegetal, iar în caz contrar, se repetă operațiile descrise pînă cînd fiola ajunge la greutate constantă.

După ce s-a adus fiola la greutate constantă, se ia din proba de analizat, în prealabil bine mărunțită pe o placă de sticlă sau de porțelan, o cantitate de 6—7 g, care se pune în fiolă. Se acoperă fiola și se cîntărește cu precizie la balanța analitică. Se deschide apoi fiola (așezînd capacul oblic în gîtul ei) și se introduce pentru 30 minute într-un termostat la temperatura de 110°C pentru a inactiva enzimele din materialul analizat, iar după aceea se trece într-o etuvă cu ventilație bună la temperatura de 50—60°C pentru uscarea prealabilă a materialului. În acest timp, materialul se amestecă din cînd în cînd cu ajutorul baghetei de sticlă cu nisipul din fiolă, pentru a deveni mai afînat, ca să se usuce mai bine. Dacă nu se face această operație, atunci la suprafața materialului se formează o pojghiță tare, fapt ce împiedică uscarea substanței din interior. Uscarea se face pînă cînd prin apăsarea ușoară a materialului din fiolă cu ajutorul baghetei se va constata că acesta a devenit casant. Se trece apoi fiola într-un termostat la temperatura de 100—105°C pentru un interval de timp de 3—4 ore, iar după aceea se răcește în exsicator și se cîntărește. După cîntărire se pune fiola din nou în termostat la 100—105°C pentru 2 ore și apoi se cîntărește după o răcire prealabilă în exsicator. Dacă diferența dintre cele două cîntăriri nu depășește 0,0003 g se consideră că materialul a ajuns la greutate constantă, iar în caz contrar se repetă operația descrisă pînă cînd conținutul fiolei va fi adus la greutatea constantă.

În timpul cît fiola stă în termostat, temperatura nu trebuie să depășească valoarea de 105°C, deoarece materialul de analizat se poate carboniza și, în acest caz, se produce o pierdere din greutatea lui; tot în acest caz poate să se producă o creștere în greutatea sa datorită formării unor compuși noi cu oxigenul din aer, ceea ce duce la erori în determinare. De asemenea trebuie avut în vedere faptul că substanțele care se descompun ușor nu se pot usca la 105°C, ci numai în vid.

Calcularea umidității (în %) se face după formula:

$$\text{Umiditatea la } \% = \frac{(a-b) \times 100}{a},$$

în care a reprezintă greutatea materialului proaspăt luat la analiză, care se obține scăzînd tara din greutatea fiolei cu material proaspăt, iar b este greutatea substanței uscate și se obține scăzînd tara din greutatea fiolei cu material vegetal uscat la greutate constantă.

Scanned with OKEN Scanner

Cantitatea de substanță uscată din materialul analizat se obține cu ajutorul formulei $\frac{b \times 100}{a}$.

Dacă materialul vegetal proaspăt, folosit la determinarea umidității, urmează să fie utilizat și pentru alte analize, atunci în fiola de cîntărit, care se aduce la greutate constantă înainte de introducerea materialului în ea, nu se mai pune nisip de cuarț. În timpul uscării prealabile, materialul trebuie să fie amestecat des cu ajutorul baghetei de sticlă.

În cazul cînd se determină umiditatea unui material uscat în aer (care nu mai conține decît umiditate higroscopică), proba luată pentru analiză se introduce direct în termostat la temperatura de 100—105°C, fără să se mai facă o uscare prealabilă.

2. APA DIN SOL

Solul este alcătuit în special din particule solide de diferite mărimi și din substanțe coloidale organice și anorganice. Pentru viața plantelor prezintă o importanță deosebită cantitatea de apă din sol și forța cu care apa aceasta este reținută, deoarece ele nu pot absorbi decît acea parte din apa aflată în sol care este reținută cu forțe mai mici decît forța lor de sucțiune. Cantitatea de apă din sol este în strînsă legătură cu o serie de însușiri ale lui, ca permeabilitatea, capilaritatea etc., a căror cunoaștere este deosebit de importantă. De asemenea, este de o mare importanță prezența aerului în sol, deoarece oxigenul este absolut necesar pentru respirația rădăcinilor, care în lipsa acestuia nu pot absorbi apa și în cele din urmă mor, fapt ce duce la pieirea întregii plante.

Experiența nr. 48

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A APEI EXISTENTE ÎN SOL

Se întinde solul într-un strat subțire și se lasă să se usuce bine la aer. Se cerne apoi printr-o sită cu ochiurile de 1—2 mm și din solul cernut se ia o cantitate mică (1—2 linguri) într-o eprubetă cu pereții uscați. După aceea se ține eprubeta în poziție înclinată deasupra flăcării unui bec de gaz. În scurt timp se va constata că în apropierea gurii eprubetei, unde pereții rămîn mai reci, vor apărea picături de apă care provin din apa ce se găsea în sol. Aceasta sub influența încălzirii s-a transformat în stare de vapori, care se condensează pe pereții reci ai eprubetei.

Experiența nr. 49

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A PREZENȚEI AERULUI ÎN SOL

Într-un cilindru gradat, cu o capacitate de 100 ml, se pune sol pînă în dreptul diviziunii 50. După aceea se toarnă dintr-un pahar Berzelius o cantitate de 50 ml de apă peste solul din cilindrul gradat.

Scanned with OKEN Scanner

amestecîndu-l cu o baghetă. Apa va dezlocui aerul din sol, fapt ce duce la scăderea nivelului ei în cilindrul gradat. Cantitatea de aer care s-a găsit în solul cercetat va fi egală cu diferența (în mililitri) dintre diviziunea 100 de pe cilindru și diviziunea la care se află apa la sfîrșitul experienței.

Experiența nr. 50

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A ASCENSIUNII CAPILARE

Prin ascensiune capilară se înțelege urcarea apei prin spațiile capilare ale solului. Determinarea ascensiunii capilare prezintă importanță pentru faptul că ne furnizează indicații asupra timpului necesar pentru aprovizionarea solului cu apă capilară.

Viteza de ridicare a apei capilare în sol se determină cu aparatul Wahnschaffe, care constă din 10 tuburi de sticlă, cu diametrul de 2 cm și lungimea de 1 m, fixate în poziție verticală într-un stativ prevăzut la partea inferioară cu un vas paralelipipedic din tablă, ce servește ca baie de apă (fig. 46). Pentru determinare se leagă la capătul inferior al tuburilor cîte o bucată de pînză și se umplu cu soluri diferite (de pildă, într-un tub se pune pămînt argilos, în altul un pămînt bogat în humus, în altul un pămînt nisipos etc.), în așa fel ca înălțimea solurilor să fie aceeași în toate tuburile. După această operație se scufundă baza tuburilor în baia de apă, pe o distanță de 1—2 cm. Acest lucru se realizează suspendînd tuburile la stativ cu ajutorul unor inele de cauciuc, care se fixează pe tuburi la înălțimea potrivită. În timpul experienței, nivelul apei din baie trebuie menținut pe cît se poate constant, iar pentru evitarea influenței aerului se recomandă ca în baie să se pună apă care a fost fiartă și răcită în prealabil, pentru a scoate aerul din ea. Se notează ora la care se începe experiența și se urmărește urcarea apei în coloanele de sol. După un timp, se măsoară înălțimea pînă la care s-a ridicat apa în tuburi. Rezultatul, adică viteza cu care se urcă apa în spațiile capilare, se exprimă în cm/h sau în cm/24 h.

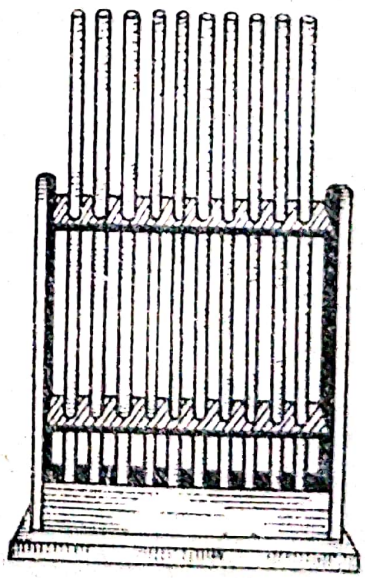


Fig. 46. Aparatul Wahnschaffe (după Gerhardt).

Experiența nr. 51

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A PERMEABILITĂȚII SOLULUI

Prin permeabilitate se înțelege proprietatea pe care o are solul de a lăsa apa să se infiltreze în profunzime. Determinarea per-

meabilității prezintă importanță prin faptul că oferă indicații asupra capacității solurilor de a reține apa.

Punerea în evidență a permeabilității solului se face cu ajutorul tubului lui E. Wolff. Acesta este confecționat din tablă, are o lungime de 25 cm și se termină la extremitatea inferioară printr-o prelungire în formă de pîlnie care se continuă cu un tub scurt (fig. 47). În secțiune, tubul Wolff este de formă pătrată, avînd laturile de 3 cm.

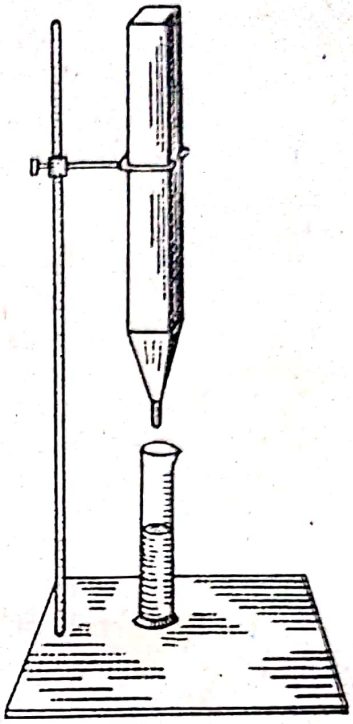


Fig. 47. Tubul lui E. Wolff (după Chiriţescu — Arva).

Experiența se face în felul următor: se astupă cu puțină vată tubul cu care se termină porțiunea în formă de pîlnie, iar aceasta se umple cu pietriș sau nisip mare; se pune apoi peste acest strat pămînt pe o înălțime de 16 cm. După efectuarea acestor operațiuni se toarnă peste pămîntul din tub apă. În timpul experienței, coloana de apă trebuie să aibă o înălțime de 8 cm și nivelul acesteia trebuie să se mențină cît mai constant. În acest scop se utilizează o baghetă de sticlă prevăzută cu un semn la distanța de 8 cm de capătul ei inferior; ea se sprijină cu capătul inferior de coloana de pămînt din tub, iar apa se toarnă treptat, în așa fel ca nivelul ei să se mențină în permanență în dreptul semnului de pe baghetă.

După ce spațiile lacunare din sol se umplu cu apă și aceasta începe să picure prin tubul de la extremitatea în formă de pîlnie, se așază sub tubul Wolff un cilindru gradat cu o capacitate de 50 ml. Se notează timpul în care se colectează 50 ml de apă și se calculează gradul de permeabilitate, care se exprimă în ml apă/h.

Experiența se mai poate efectua folosind un tub de sticlă cu diametrul de 3—4 cm, terminat la capăt cu o pîlnie. Acesta prezintă avantajul că este transparent și permite atît observarea infiltrării apei cît și menținerea cu ușurință a coloanei de apă la un nivel constant deasupra pămîntului din interior. De asemenea, prin faptul că acest tub nu are muchii, pămîntul se așază în interiorul lui uniform.

Experiența nr. 52

DETERMINAREA HIGROSCOPICITĂȚII SOLULUI

Experiența se face cu soluri de tipuri diferite (de pildă, unul nisipos, altul argilos și un sol bogat în humus), care în prealabil se întind într-un strat subțire, se lasă să se usuce bine la aer și se cern printr-o sită cu ochiurile de 1—2 mm. După aceea se ia separat în cîte o

fiolă de cîntărit, căreia i se determină tara (cîntărirea I), o cantitate de cca. 10 g din fiecare tip de sol. Se pun fiolele cu sol într-un exsicator pe fundul căruia s-au pus în prealabil 200—300 ml H_2SO_4, soluție 10%, pentru a menține în interiorul lui o atmosferă cu o umiditate relativă de 96%. Se închide exsicatorul cu capacul și se lasă fiolele în interiorul lui timp de 2—3 săptămîni, pînă cînd, în urma unor cîntăriri repetate, ne-am convins că ele au ajuns la greutate constantă. Se notează greutatea fiolelor cu sol în acest moment (cîntărirea II) și după aceea se determină umiditatea solului prin uscarea lui în termostat la temperatura de 100—105°C (v. experiența nr. 53).

Umiditatea higroscopică maximă (în %) se calculează după formula:

$$\frac{(B-C) \times 100}{C},$$

în care:

B este greutatea solului după scoaterea lui din exsicator (cîntărirea II — cîntărirea I);
C — greutatea solului absolut uscat; aceasta se calculează scăzînd tara fiolei din greutatea fiolei cu sol, după uscarea lui în termostat pînă la greutatea constantă.

Experiența nr. 53

DETERMINAREA UMIDITĂȚII SOLULUI (A SUBSTANȚEI USCATE)

Determinarea umidității sau a substanței uscate a solului prezintă o importanță deosebită, deoarece substanța uscată reprezintă un etalon la care se raportează rezultatele celorlalte analize de laborator.

Pentru determinarea umidității solului, prin care se înțelege cantitatea de apă pe care o conține solul în momentul în care se face analiza, se folosesc fiole mai mari de cîntărit, cu capac șlefuit. Determinarea se face în felul următor: se află greutatea fiolei goale (tara = cîntărirea I), după care se introduce în ea o cantitate de 20—30 g de pămînt și se recîntărește (cîntărirea II). Se introduce apoi fiola descoperită într-un termostat la temperatura de 100—105°C pentru un interval de timp de 4 ore. După aceasta se scoate fiola din termostat, se închide repede cu capacul și se introduce într-un exsicator, în care se găsește o substanță avidă de apă ($CaCl_2$ sau H_2SO_4 concentrat), unde se lasă pînă la răcire (15—30 minute). Se cîntărește apoi fiola cu sol, după ce în prealabil i se ridică pentru cîteva clipe capacul pentru a permite intrarea aerului în interiorul ei (cîntărirea III). După cîntărire se introduce din nou fiola în termostat, unde se lasă timp de 4 ore tot la temperatura de 100—105°C, și apoi se cîntărește pentru a doua oară, respectînd regulile menționate anterior. Dacă greutatea fiolei cu sol nu diferă de cea determinată la cîntărirea precedentă sau diferența dintre cele două

Scanned with OKEN Scanner

cîntăriri nu este mai mare de 5 mg, solul poate fi considerat uscat (ajuns la greutate constantă). În cazul cînd diferența dintre cele două cîntăriri depășește 5 mg, se repetă uscarea în termostat și cîntărirea, pînă se ajunge la greutate constantă.

Calcularea umidității solului se face după formula:

$$\text{Umiditatea în } \% = \frac{(Gi - Gf) \times 100}{Gf},$$

în care:

Gi este greutatea inițială a solului, care se obține scăzînd tara din greutatea fiolei cu sol înainte de introducerea ei în termostat (cîntărirea II—cîntărirea I);

Gf — greutatea finală a solului (absolut uscat); aceasta se obține scăzînd tara din greutatea fiolei cu sol uscat (cîntărirea III—cîntărirea I).

Experiența nr. 54

DETERMINAREA CAPACITĂȚII MINIME PENTRU APĂ A SOLULUI

Prin capacitatea minimă pentru apă se înțelege cantitatea de apă pe care o poate absorbi și reține solul în spațiile sale capilare. Această cantitate de apă se raportează la sol absolut uscat și mai poartă denumirile de capacitate normală, relativă, absolută sau capacitate pentru apă.

Pentru determinarea capacității minime se folosește tubul Wolff—Wahnschaffe (fig. 48). Acesta are o înălțime de 16 cm, diametrul de 4 cm și este confecționat din aluminiu, alamă sau zinc. Fundul tubului este acoperit cu o plasă de sîrmă rigidă și este prevăzut cu un manșon de metal, care prezintă o serie de orificii laterale.

Fig. 48. Tubul Wolff-Wahnschaffe (după Skazkin).

Modul de lucru. Înainte de a umple tubul cu solul a cărui capacitate minimă pentru apă urmează să fie determinată, se pune în interiorul lui, pe plasa de sîrmă, o hîrtie de filtru de dimensiunile fundului tubului. Se umectează apoi hîrtia de filtru și pereții interiori ai tubului, se scurge surplusul de apă și se cîntărește tubul după ce în prealabil a fost așezat într-un cristalizor (tara = = cîntărirea I). După cîntărire se umple tubul cu solul de cercetat. Umplerea se face în trei reprize, luînd de fiecare dată porțiuni de sol pe cît posibil egale, și după luarea fiecărei porțiuni se bate tubul cu baza de 100 de ori pe o bucată de pîslă sau de cauciuc. Dacă tubul s-a umplut cu pămînt pînă la semnul circular aflat pe partea interioară la distanța de 1 cm de la gura lui, se cîntărește împreună cu cristalizorul folosit la stabilirea tarei, iar în caz contrar, înainte de cîntărire se va adăuga

pămînt pînă la semn. În cazul cînd se lucrează cu soluri bogate în humus, umplerea se face pînă la o distanță de 2 cm de la gura tubului, ca să rămînă un spațiu suficient pentru eventuala mărire de volum a solului. Se notează greutatea obținută la cîntărire (tara + pămînt = = cîntărirea II) și se scufundă apoi tubul într-un vas cu apă, în așa fel ca nivelul acesteia să se ridice peste plasa de sîrmă a tubului cu 0,5—1 cm. Pentru a împiedica în acest timp evaporarea apei din sol se acoperă tubul cu cristalizorul. Se lasă tubul în apă pînă cînd aceasta s-a urcat pînă la suprafața solului, fapt ce se recunoaște după închiderea la culoare a acestuia. Apa se ridică pînă la suprafața solului în decurs de 24—48 ore și în acest interval de timp nivelul ei din vasul în care se găsește tubul trebuie menținut cît mai constant posibil. După ce spațiile din sol s-au umplut cu apă, se scoate tubul din vas și se lasă timp de 2 ore pentru ca să se scurgă apa care a intrat în spațiile necapilare ale solului aflat în porțiunea inferioară a tubului. În acest timp, tubul va fi ținut în continuare acoperit cu cristalizorul (pentru a se împiedica evaporarea apei la suprafața solului). Se șterge apoi manșonul de metal de picăturile de apă care pot rămîne pe el, se așază tubul în cristalizorul cu care a fost acoperit și se cîntărește, pentru a afla greutatea tubului cu pămînt și apa absorbită (tara + pămînt + apă = cîntărirea III). Pentru a verifica dacă s-a scurs toată apa din spațiile necapilare ale solului se acoperă din nou tubul cu cristalizorul și se lasă încă 30 minute în repaus, iar după aceea se face o nouă cîntărire. Dacă greutatea tubului a rămas neschimbată, se trece la calcularea capacității minime pentru apă, iar în caz contrar, se repetă operația amintită pînă ce se ajunge la greutatea constantă.

Întrucît capacitatea minimă se raportează la solul absolut uscat, se determină în paralel și umiditatea solului respectiv (v. experiența nr. 53).

Calcularea rezultatului se face în felul următor: Să presupunem că în cadrul unei determinări greutatea tubului gol a fost de 132,41 g (cîntărirea I), greutatea tubului cu sol de 369,61 g (cîntărirea II), greutatea tubului cu sol saturat cu apă a fost de 428,25 g (cîntărirea III), iar umiditatea solului de 15%.

În primul rînd trebuie să se calculeze cantitatea de sol absolut uscat care se găsește în tub. Pentru aceasta se face întîi diferența dintre cîntărirea II și cîntărirea I (369,61 g — 132,41 g = 237,20 g), ca să se afle greutatea inițială a solului din tub, iar după aceea se recurge la raționamentul următor:

Dacă în 100 g sol există . . . . 15 g apă

atunci în 237,20 g sol se vor găsi . . x g

$$\text{de unde } x = \frac{15 \times 237{,}20}{100} = 35{,}58 \text{ g apă}$$

De aici rezultă că greutatea solului absolut uscat din tub va fi egală cu: 237,20 g — 35,58 g = 201,62 g.

Se află apoi cantitatea solului saturat cu apă, făcînd diferența dintre cîntărirea III și cîntărirea I (428,25 g — 132,41 g = 295,84 g). Cunoscînd greutatea solului absolut uscat și greutatea lui cînd este saturat cu apă (295,84 g), se calculează capacitatea minimă (în %) după formula:

$$\text{Capacitatea minimă în } \% = \frac{(A-B)\times 100}{B}$$

în care:

A reprezintă greutatea solului saturat cu apă;

B — greutatea solului absolut uscat.

În cazul exemplificat, capacitatea minimă pentru apă a solului cercetat va fi:

$$\frac{(295{,}84-201{,}62)\times 100}{201{,}62} = 46{,}73\,\%$$

Experiența nr. 55

DETERMINAREA CAPACITĂȚII TOTALE PENTRU APĂ A SOLULUI

Capacitatea totală pentru apă, denumită și capacitate maximă, capacitate posibilă sau capacitate completă, reprezintă cantitatea de apă din sol în situația cînd toate spațiile din interiorul lui sînt umplute cu apă. Această situație se poate întîlni în sol numai după ploile mari sau după inundații și este o stare instabilă, deoarece apa din spațiile mai mari, necapilare (apa gravitațională), se infiltrează.

Determinarea capacității totale pentru apă se face tot cu ajutorul tubului Wolff-Wahnschaffe (fig 48), care se pregătește pentru determinare și umplere cu sol în modul descris la experiența nr. 54. După ce s-a cîntărit tubul gol (tara = cîntărirea I) și s-a umplut tubul cu pămînt (cîntărirea II), acesta se introduce într-un vas cu apă, în așa fel ca apa să ajungă pînă la nivelul pămîntului din interiorul său. Se lasă tubul în apă pînă în momentul cînd aceasta a ajuns la partea superioară a pămîntului, apoi se scoate tubul din apă. Se lasă să se scurgă apa de la suprafața pămîntului, se șterge apa rămasă pe peretele tubului și se cîntărește tubul cu solul îmbibat cu apă (cîntărirea III).

Întrucît capacitatea totală pentru apă se raportează la solul absolut uscat, este necesar să se determine în paralel și umiditatea solului de cercetat (v. experiența nr. 53). Cunoscînd umiditatea solului de experiență și cantitatea de sol din tub (care se află făcînd diferența dintre cîntărirea II și cîntărirea I), se calculează cantitatea de sol absolut uscat din tub, folosindu-se raționamentul expus în cadrul experienței nr. 54. După aceea se trece la calcularea capacității totale pentru apă, care se obține din formula:

Scanned with OKEN Scanner

$$\text{Capacitatea totală în } \% = \frac{(A-B) \times 100}{B}$$

în care:

A este greutatea solului complet îmbibat cu apă (se calculează făcînd diferența dintre cîntărirea III și cîntărirea I);

B — greutatea solului absolut uscat.

Experiența nr. 56

DETERMINAREA PUTERII DE REȚINERE A APEI DE CĂTRE SOL (METODA STOCKER)

Pentru viața plantelor prezintă o mare importanță forța cu care este reținută apa de către solul în care cresc, deoarece ele pot absorbi din sol numai apa care este reținută cu o forță mai mică decît forța de sucțiune a perilor absorbanți.

În principiu, metoda constă în ținerea timp de 24 de ore a unor fîșii de hîrtie de filtru, îmbibate cu soluții de zaharoză de concentrații diferite, deasupra solului de cercetat, care este închis ermetic în vase de sticlă, și găsirea hîrtiei care nu și-a modificat greutatea. Presiunea osmotică a soluției cu care a fost îmbibată această hîrtie va fi egală cu forța de reținere a apei (exprimată în atmosfere) a solului respectiv.

Pentru determinare se folosesc sticle cu dop rodat, cu o capacitate de 250 ml. Pe partea inferioară a dopurilor se fixează cu puțină ceară de sigiliu cîte un cîrlig mic din sîrmă de argint sau de cupru. În aceste borcane se pun cantități egale de sol (50—60 g) și cîte un cristal de timol pentru a împiedica dezvoltarea ciupercilor și a bacteriilor. După aceea se închid borcanele ermetic, ungînd dopurile lor cu lanolină sau vaselină. Se taie apoi dintr-o fîșie de hîrtie de filtru cu o structură omogenă cîte o bucată de hîrtie cu dimensiunile de 4×4 cm pentru fiecare borcan. Hîrtiile tăiate se îndoaie foarte bine, pentru ca cele două jumătăți ale lor să rămînă alipite; se obțin astfel fîșii duble cu dimensiunile de 2×4 cm și li se atașează cîte un cîrlig mic, confecționat din sîrmă de argint. După aceea se scufundă fîșiile în soluții de zaharoză de concentrații diferite (în soluții a căror concentrație crește cu rata de 0,1 mol), se storc ușor între două bucăți de hîrtie de filtru, se cîntăresc cît mai repede posibil (cu o precizie de 0,2 mg) la o balanță analitică și se suspendă în borcanele cu sol, atîrnîndu-le cu cîrligul de argint de cîrligul fixat pe dopul borcanelor. Borcanele se închid ermetic și se așază într-un loc cu temperatură constantă și ferit de razele directe ale soarelui, pentru a se evita aburirea pereților.

După un interval de timp de 24 de ore, fîșiile de hîrtie de filtru se cîntăresc din nou. Se va constata că o parte din fîșii și-au mărit greutatea, iar altele au pierdut din greutatea lor inițială. Aceasta ne arată că primele au fost îmbibate cu soluții de zaharoză care au o presiune osmotică mai mare decît forța cu care reține solul apa, deoarece acesta a cedat vapori de apă soluției. Celelalte fîșii au fost îmbibate cu soluții

Scanned with OKEN Scanner

cu o presiune osmotică mai mică decît forţa cu care este reţinută apa de către sol şi ca urmare a acestui fapt au cedat vapori de apă solului. La limita dintre aceste două grupe de fişii de hîrtie de filtru se va găsi fîşia de hîrtie căutată, şi anume aceea care nu şi-a schimbat greutatea. Puterea de reţinere a apei de către sol se exprimă în atmosfere şi va fi egală cu presiunea osmotică a soluţiei de zaharoză cu care a fost îmbibată această hîrtie. Valoarea presiunii osmotice a acestei soluţii se caută în tabelul 1.

Tabelul 1

Presiunea osmotică a soluţiilor de zaharoză la 20°C (după Ursprung)

Soluţia de zaharoză mol	Presiunea osmotică atm	Soluţia de zaharoză mol	Presiunea osmotică atm	Soluţia de zaharoză mol	Presiunea osmotică atm	Soluţia de zaharoză mol	Presiunea osmotică atm
0,00	0,0	0,42	11,8	0,83	27,2	1,25	48,9
0,01	0,3	0,43	12,2	0,84	27,6	1,26	49,5
0,02	0,5	0,44	12,5	0,85	28,1	1,27	50,1
0,03	0,8	0,45	12,8	0,86	28,5	1,28	50,8
0,04	1,1	0,46	13,1	0,87	29,0	1,29	51,4
0,05	1,3	0,47	13,5	0,88	29,4	1,30	52,0
0,06	1,6	0,48	13,8	0,89	29,9	1,31	52,7
0,07	1,9	0,49	14,1	0,90	30,4	1,32	53,4
0,08	2,1	0,50	14,5	0,91	30,8	1,33	54,0
0,09	2,4	0,51	14,8	0,92	31,3	1,34	54,7
0,10	2,7	0,52	15,1	0,93	31,8	1,35	55,4
0,11	2,9	0,53	15,5	0,94	32,3	1,36	56,1
0,12	3,2	0,54	15,8	0,95	32,7	1,37	56,8
0,13	3,5	0,55	16,2	0,96	33,2	1,38	57,5
0,14	3,7	0,56	16,5	0,97	33,7	1,39	58,2
0,15	4,0	0,57	16,9	0,98	34,2	1,40	58,9
0,16	4,3	0,58	17,2	0,99	34,7	1,41	59,7
0,17	4,5	0,59	17,6	1,00	35,2	1,42	60,4
0,18	4,8	0,60	18,0	1,01	35,7	1,43	61,1
0,19	5,1	0,61	18,4	1,02	36,2	1,44	61,9
0,20	5,3	0,62	18,7	1,03	36,7	1,45	62,7
0,21	5,6	0,63	19,1	1,04	37,3	1,46	63,4
0,22	5,9	0,64	19,5	1,05	37,8	1,47	64,2
0,23	6,2	0,65	19,8	1,06	38,3	1,48	65,0
0,24	6,4	0,66	20,2	1,07	38,8	1,49	65,8
0,25	6,7	0,67	20,6	1,08	39,3	1,50	66,6
0,26	7,0	0,68	21,0	1,09	39,9	1,51	67,4
0,27	7,3	0,69	21,4	1,10	40,4	1,52	68,2
0,28	7,6	0,70	21,8	1,11	41,0	1,53	69,1
0,29	7,9	0,71	22,2	1,12	41,5	1,54	69,9
0,30	8,2	0,72	22,5	1,13	42,0	1,55	70,8
0,31	8,5	0,73	22,9	1,14	42,6	1,56	71,6
0,32	8,8	0,74	23,4	1,15	43,2	1,57	72,5
0,33	9,1	0,75	23,8	1,16	43,7	1,58	73,3
0,34	9,4	0,76	24,2	1,17	44,3	1,59	74,2
0,35	9,7	0,77	24,6	1,18	44,8	1,60	75,1
0,36	10,0	0,78	25,0	1,19	45,4	1,61	76,0
0,37	10,3	0,79	25,4	1,20	46,0	1,62	76,9
0,38	10,6	0,80	25,9	1,21	46,5	1,63	77,8
0,39	10,9	0,81	26,3	1,22	47,1	1,64	78,7
0,40	11,2	0,82	26,7	1,23	47,7	1,65	79,7
0,41	11,5			1,24	48,3	1,66	80,6

Scanned with OKEN Scanner

(continuare tabelul 1)

Soluția de zaharoză mol	Presiunea osmotică atm	Soluția de zaharoză mol	Presiunea osmotică atm	Soluția de zaharoză mol	Presiunea osmotică atm	Soluția de zaharoză mol	Presiunea osmotică atm
1,67	81,5	1,96	112,2	2,25	155,4	2,54	211,8
1,68	82,5	1,97	113,7	2,26	157,1	2,55	214,0
1,69	83,5	1,98	114,9	2,27	158,8	2,56	216,3
1,70	84,4	1,99	116,2	2,28	160,6	2,57	218,6
1,71	85,4	2,00	117,5	2,29	162,4	2,58	220,9
1,72	86,4	2,01	118,8	2,30	164,2	2,59	223,3
1,73	87,4	2,02	120,1	2,31	166,0	2,60	225,6
1,74	88,4	2,03	121,4	2,32	167,8	2,61	228,1
1,75	89,4	2,04	122,8	2,33	169,6	2,62	230,5
1,76	90,4	2,05	124,2	2,34	171,5	2,63	233,0
1,77	91,4	2,06	125,6	2,35	173,3	2,64	235,5
1,78	92,5	2,07	127,0	2,36	175,2	2,65	238,0
1,79	93,5	2,08	128,4	2,37	177,1	2,66	240,6
1,80	94,5	2,09	129,8	2,38	179,0	2,67	243,2
1,81	95,6	2,10	131,3	2,39	180,9	2,68	245,8
1,82	96,7	2,11	132,8	2,40	182,9	2,69	248,4
1,83	97,7	2,12	134,3	2,41	184,8	2,70	251,1
1,84	98,8	2,13	135,8	2,42	186,8	2,71	253,8
1,85	99,9	2,14	137,3	2,43	188,8	2,72	256,6
1,86	101,0	2,15	138,9	2,44	190,8	2,73	259,4
1,87	102,1	2,16	140,5	2,45	192,8	2,74	262,3
1,88	103,2	2,17	142,1	2,46	194,8	2,75	265,2
1,89	104,3	2,18	143,7	2,47	196,9	2,76	268,1
1,90	105,5	2,19	145,3	2,48	198,9	2,77	271,1
1,91	106,6	2,20	146,9	2,49	201,0	2,78	274,1
1,92	107,7	2,21	148,6	2,50	203,1	2,79	277,2
1,93	108,9	2,22	150,3	2,51	205,2	2,80	280,3
1,94	110,1	2,23	152,0	2,52	207,4	2,81	283,4
1,95	111,3	2,24	153,7	2,53	209,5	—	—

Dacă toate fîșiile de hîrtie de filtru și-au modificat greutatea inițială, aceasta înseamnă că valoarea puterii de reținere a apei de către sol este cuprinsă între două soluții de concentrație învecinată. Hîrtiile de filtru care au fost îmbibate cu aceste două soluții sînt caracterizate una printr-o sporire a greutății, iar cealaltă printr-o micșorare a acesteia. În acest caz se iau în considerație presiunile osmotice ale soluțiilor cu care au fost îmbibate aceste două fîșii de hîrtie de filtru, și valoarea puterii de reținere a apei de către solul cercetat se află făcînd media dintre presiunile osmotice ale acestor două soluții. Pentru determinări mai precise se recomandă ca să se repete determinarea cu fîșii de hîrtie de filtru îmbibate în soluții a căror concentrație crește cu 0,01 mol și este cuprinsă între concentrația soluției la care hîrtia de filtru și-a micșorat greutatea în experiența precedentă și cea a soluției în care a fost îmbibată hîrtia a cărei greutate a crescut. Metoda permite stabilirea puterii de reținere a apei de către sol cu o exactitate de ± 1 atmosferă.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 57

DETERMINAREA DIRECTĂ A COEFICIENTULUI DE VEŞTEJIRE (DUPĂ I. S. DOLGOV)

Metoda constă în folosirea plantelor, de obicei de orz, ca mijloc de extragere a apei din sol, pînă la apariţia veştejirii permanente a acestora.

Pentru determinare se folosesc păhărele de aluminiu (cu diametrul de 3,5—4 cm şi înălţimea de 6 cm), în care se introduc 40—60 g de sol uscat la aer. După aceasta se umectează solul din păhărele pe toată adîncimea, ţinînd păhărelele puţin înclinat şi turnînd apoi apa treptat, pe măsura înfiltrării ei. În acest fel, apa se va infiltra în sol în mod liber, evacuînd aerul. Se recomandă să se evite în timpul umectării acoperirea cu apă a întregii suprafeţe libere a solului din păhărele, deoarece în acest caz o parte din aer poate să rămînă închis în sol. După umectare se introduc în fiecare păhărel cîte 5—6 boabe încolţite de orz şi pînă la răsărirea plantelor se acoperă păhărelele cu cîte un capac de carton pentru a evita evaporarea apei din solul aflat în ele. După răsărirea plantelor, păhărelele se ţin într-un loc bine luminat, cu scopul de a evita alungirea excesivă a plantelor.

Plantele sînt gata pentru experienţă în momentul în care frunza a doua începe să depăşească în lungime prima lor frunză. Acest moment de începere a experienţei s-a putut stabili pe baza unor determinări făcute în păhărele de sticlă, determinări care au dus la concluzia că în acest interval de timp rădăcinile plantelor străbat tot solul aflat în păhărele. După aceasta, se lasă în fiecare păhărel doar cîte 4 plante şi se acoperă suprafaţa solului din păhărele cu un amestec format din parafină şi vaselină tehnică în proporţie de 4 : 1, care se pune peste sol în momentul cînd este aproape răcit, pentru a nu vătăma plantele. În lipsa amestecului, solul din păhărele poate fi acoperit cu vată. În momentul în care amestecul se răceşte, se fac cu ajutorul unui ac cîte două orificii în stratul izolator din fiecare păhărel, pentru a permite circulaţia aerului. După efectuarea acestor operaţiuni, păhărelele se aşază într-un loc ferit de lumina solară directă şi se observă plantele zilnic (dimineaţa, la prînz şi seara), urmărind veştejirea lor.

La veştejire se pot distinge trei faze:

a) începutul veştejirii, cînd s-au veştejit şi s-au lăsat în jos numai vîrfurile primelor frunze de jos;

b) veştejirea vădită, cînd toate frunzele s-au veştejit şi s-au lăsat în jos pînă la jumătatea lungimii lor, şi

c) veştejirea totală, cînd toate frunzele s-au veştejit şi s-au lăsat în jos pe întreaga lor lungime.

În momentul în care frunzele ajung la veştejirea vădită, păhărelele se pun sub un clopot de sticlă aşezat etanş pe un strat de vată umedă sau rumeguş umed. Dacă veştejirea se va menţine pînă în dimineaţa următoare, experienţa se consideră terminată, deoarece solul a ajuns la umiditatea veştejirii stabile sau permanente. În acest caz, se scot

probele de sol din pahărele, li se îndepărtează porţiunea superioară pe o distanţă de 1—2 cm (adică stratul de parafină-vaselină şi stratul de sol prea uscat de la suprafaţă, care conţine şi resturile de seminţe), se curăţă probele de sol de rădăcini, se cîntăresc şi li se determină umiditatea după metoda indicată la experienţa nr. 53. Umiditatea veştejirii stabile se exprimă în procente şi se raportează la greutatea solului absolut uscat.

Dacă prin ţinerea pahărelelor sub clopotul de sticlă plantele îşi revin pînă în dimineaţa următoare, se aşază pahărelele la locul iniţial şi se continuă experienţa pînă cînd plantele, repuse sub clopotul de sticlă, nu îşi vor mai reveni din starea de veştejire vădită.

3. ABSORBŢIA APEI DE CĂTRE PLANTE

Experienţa nr. 58

OBSERVAREA MACRO- ŞI MICROSCOPICĂ A PERILOR ABSORBANŢI

Într-un ghiveci cu nisip curat şi bine udat se seamănă seminţe de grîu, porumb sau muştar, după ce au fost în prealabil îmbibate cu apă. După cîteva zile, trăgînd plantulele afară din nisip, se poate observa că pe o porţiune a rădăcinilor, începînd de la o oarecare distanţă de vîrf, particulele de nisip aderă de ele, formînd un fel de manşon (fig. 49, *a*). Dacă se spală o rădăcină în apă, în regiunea în care s-a găsit manşonul de nisip se vor putea vedea numeroşi peri absorbanţi, care se găsesc de jur împrejurul rădăcinii, formînd o pîslă deasă. Aceasta este zona perişorilor absorbanţi (fig. 49, *b*). Sub această zonă, spre vîrful rădăcinii, urmează zona netedă şi apoi scufia, care acoperă vîrful rădăcinii, iar deasupra se găseşte o altă zonă lipsită de peri, numită regiunea suberificată.

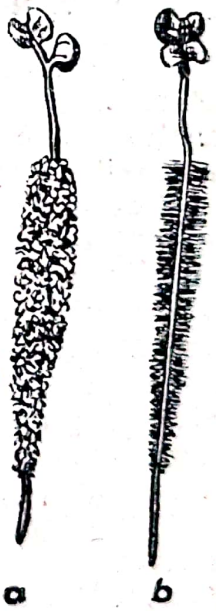


Fig. 49. Zona perilor absorbanţi a rădăcinii:
a — zona perilor absorbanţi cu particulele de nisip care aderă de ei; *b* — zona perilor absorbanţi după spălarea rădăcinii (după Sachs).

Zona perişorilor absorbanţi ai rădăcinii mai poate fi pusă în evidenţă uşor folosind o instalaţie alcătuită dintr-un borcan sau vas paralelipipedic de sticlă, care are doi dintre pereţi căptuşiţi cu hîrtie de filtru şi în care se fixează oblic o placă de sticlă înfăşurată în prealabil într- o hîrtie de filtru umectată cu apă. Se toarnă puţină apă pe fundul vasului şi se aşază pe placa de sticlă seminţe de muştar, porumb sau de grîu, care au fost îmbibate cu apă. Se acoperă apoi borcanul sau vasul paralelipipedic cu un capac de sticlă pentru a menţine în interior o atmosferă umedă. După cîteva zile, pe rădăcinile seminţelor germinate se vor putea observa uşor perişorii absorbanţi (fig. 50).

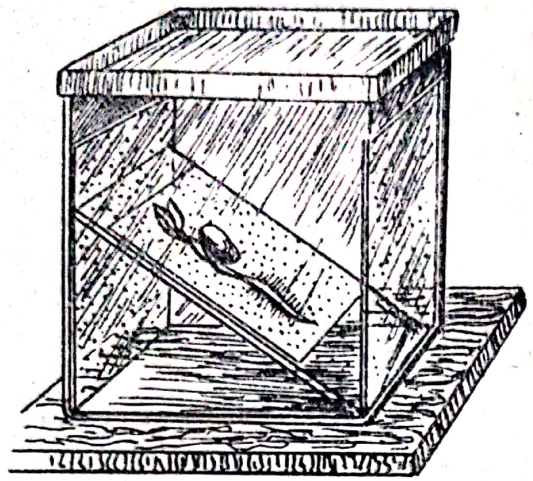


Fig. 50. Instalația pentru punerea în evidență a zonei perilor absorbanți. (după N. Moisescu)

Se iau cîțiva perișori absorbanți de pe o astfel de rădăcină, se așază pe o lamă de sticlă într-o picătură de apă, se acoperă cu o lamelă și se examinează la microscop. Se va putea observa că acești perișori se prezintă ca niște tuburi lungi, care au o membrană foarte subțire, mucilaginoasă la exterior. În interior, membrana este căptușită cu un strat de protoplasmă în care se găsește și nucleul, iar restul părului absorbant este ocupat de o vacuolă mare. Această structură, precum și faptul că în vacuolă se găsește un suc mai concentrat decît soluția din sol permit absorbția apei din mediul înconjurător.

Experiența nr. 59

DETERMINAREA CANTITĂȚII DE APĂ ABSORBITĂ PRIN RĂDĂCINI

Intensitatea absorbției apei de către rădăcinile plantelor se determină cu ajutorul potometrelor. Acestea sînt recipiente de sticlă umplute cu apă și prevăzute cu un tub gradat pe care se face citirea cantității de apă absorbită de rădăcinile plantei fixate în interiorul lor.

Cel mai convenabil pentru măsurarea cantității de apă absorbită de rădăcini este potometrul imaginat de Vesque, deoarece acesta permite reumplerea tubului gradat în timpul determinării. Potometrul Vesque (fig. 51) este alcătuit dintr-un recipient de sticlă cu gîtul mai larg, care se închide cu ajutorul unui dop de cauciuc prevăzut cu trei orificii. Printr-unul din aceste orificii trece un tub de sticlă în T, avînd una din ramuri gradată, iar cealaltă prevăzută cu o pîlnie cu robinet. Al doilea orificiu servește la fixarea în dop a unui termometru, iar în cel de-al treilea se fixează tulpina plantei, în așa fel ca rădăcinile ei să se găsească sub

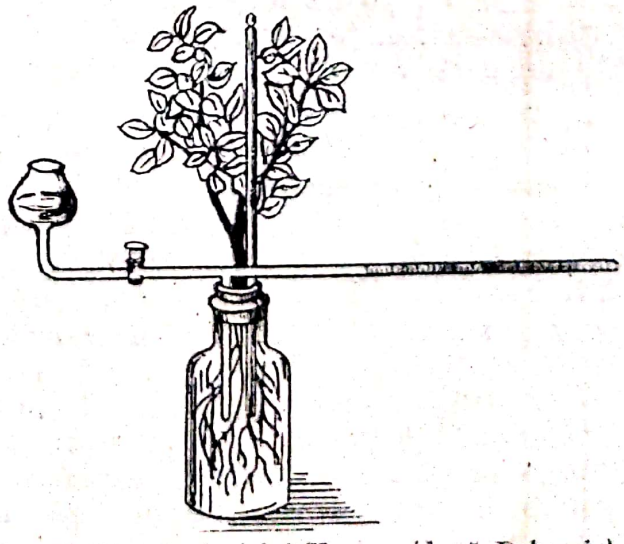


Fig. 51. Potometrul lui Vesque (după Deherain).

dop. Pentru introducerea plantei se scoate întîi sectorul din dop tăiat anume ca să comunice cu acest orificiu și după ce se așază planta în el se fixează sectorul la loc, iar dopul în potometrul umplut cu apă, avînd grijă să nu rămînă bule de aer în interiorul instalației. Eventualele spații rămase între orificiul dopului și plantă și între dop și potometru se astupă cu ceară moale sau cu parafină topită. După aceea se introduce în tubul gradat o picătură de ulei pentru a împiedica evaporarea apei la menisc și se verifică etanșeitatea potometrului. Dacă acesta este etanș, nivelul apei din tubul gradat nu trebuie să se deplaseze în decurs de un minut, iar la înclinarea potometrului apa nu se poate scurge din interiorul lui. Se aduce apoi nivelul lichidului la diviziunea zero, manevrînd în mod corespunzător robinetul de la pîlnia de sticlă, și se lasă instalația în repaus la o temperatură constantă. După o oră se citește pe tubul gradat volumul de apă absorbită de rădăcini. Întrucît instalația permite reumplerea cu apă a tubului gradat în timpul experienței, măsurarea intensității absorbției apei de către plantă se poate face la un interval de timp mai îndelungat.

Pentru experiență se folosesc de preferință plante (fasole sau porumb) cultivate în soluții minerale nutritive. Se poate lucra și cu plante cultivate în ghivece *(Phaseolus multiflorus* sau *Primula).* Înainte de efectuarea experienței, sistemul radical al acestora se spală bine cu apă pentru a se îndepărta resturile de pămînt rămase pe rădăcini.

Experiența nr. 60

STABILIZAREA ZONEI DE ABSORBȚIE A APEI LA RĂDĂCINI

Pentru a pune în evidență zona prin care se face absorbția apei de către rădăcini se iau două plantule de porumb sau de muștar. Rădăcina primei plantule se introduce într-un vas cu apă, de pildă într-un pahar Berzelius, și se toarnă deasupra apei un strat de ulei; se fixează apoi plantula la o înălțime potrivită, în așa fel ca numai vîrful rădăcinii și zona netedă să se găsească în apă, iar zona perilor absorbanți și zona suberificată să rămînă în stratul de ulei. Cea de-a doua plantulă se introduce într-un alt vas, astfel ca vîrful rădăcinii, zona ne-

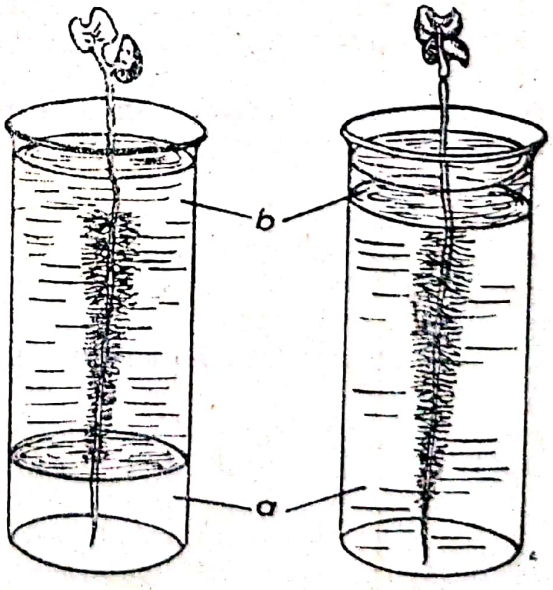


Fig. 52. Variantele experienței pentru stabilirea zonei de absorbție a apei de către rădăcinile plantelor :

a — apă ; *b* — ulei.

tedă şi zona perilor asorbanţi să se găsească în apă, iar restul rădăcinii să fie în stratul de ulei (fig. 52). După trecerea unui interval de timp se va constata că plantula care nu are zona cu peri absorbanţi a rădăcinii în apă se veştejeşte şi se usucă, fapt ce demonstrează că absorbţia apei se face prin regiunea perilor absorbanţi. Celelalte zone ale rădăcinii pot absorbi apa, dar absorbţia se face în cantitate mică şi nu este suficientă pentru a înlocui apa pierdută de organele aeriene.

Experienţa nr. 61

ABSORBŢIA APEI LA PLANTELE SUBMERSE

Plantele submerse pot absorbi apa prin toată suprafaţa corpului lor. Pentru a demonstra acest lucru se ia o ramură a unei plante acvatice submerse *(Elodea, Myriophyllum* sau *Ceratophyllum)* şi se ţine în aer timp de 15—20 minute, ca să apară semnele de veştejire. Se parafinează apoi capătul secţionat al ramurii, prin scufundarea lui pentru un timp scurt în parafină topită, ca să se astupe suprafaţa de secţiune, iar după întărirea parafinei se introduce ramura într-un cristalizor cu apă. Se va observa că în decurs de cîteva ore ramura cu frunze îşi va redobîndi turgescenţa.

Cantitatea de apă absorbită de ramură în cursul experienţei poate fi determinată cîntărind ramura veştedă înainte de a o introduce în cristalizorul cu apă şi ramura turgescentă la sfîrşitul experienţei. Cîntărirea se face la o balanţă de torsiune, cu o precizie de 0,001 g. Înainte de cîntărirea a doua trebuie să se înlăture apa rămasă pe suprafaţa ramurii, prin tamponarea ei cu o hîrtie de filtru uscată. Cantitatea de apă absorbită se exprimă în procente faţă de greutatea iniţială a ramurii.

Experienţa nr. 62

ABSORBŢIA APEI PRIN FRUNZE

Deşi plantele aeriene au organe speciale pentru absorbţia apei, ele au posibilitatea de a absorbi apa şi prin frunze. Punerea în evidenţă a absorbţiei apei de către frunze se face în modul următor:

a) Se taie o ramură bifurcată de *Syringa vulgaris* cu frunze tinere şi, după ce se astupă suprafaţa de secţiune a ramurii prin introducerea ei pentru cîteva clipe în parafină topită, se scufundă una din jumătăţile ei într-un vas cu apă (fig. 53). Se va observa că frunzele care se găsesc pe jumătatea ramurii rămase în aer îşi menţin turgescenţa timp de cîteva zile, datorită faptului că sînt aprovizionate cu apă de frunzele care se găsesc pe ramura scufundată în apa din vas.

Scanned with OKEN Scanner

b) Se folosesc frunze de *Syringa*, *Primula* sau *Phaseolus*, care se lasă cîteva ore la temperatura camerei ca să se veştejească puţin. După aceea se ia o frunză, se acoperă suprafaţa de secţiune a peţiolului prin introducerea ei în parafină topită şi după solidificarea parafinei se cîntăreşte la o balanţă analitică. Se scufundă apoi frunza într-un cristalizor cu apă pentru un interval de timp de o oră, după care se cîntăreşte din nou, avînd grijă ca în prealabil să se înlăture apa de pe suprafaţa ei prin tamponare cu ajutorul unei hîrtii de filtru uscate. După această operaţie se scufundă din nou frunza în apă şi cîntărirea se repetă după 3, 5 şi 24 de ore de la montarea experienţei. Făcîndu-se diferenţa dintre greutatea frunzei după fiecare cîntărire şi greutatea ei iniţială, se va afla cantitatea de apă absorbită, care se raportează fie la 100 g de frunze, fie la o suprafaţă foliară de 1 dm^2 pentru un interval de timp de o oră sau 24 de ore. Modul în care se calculează suprafaţa foliară este descris la experienţa nr. 64.

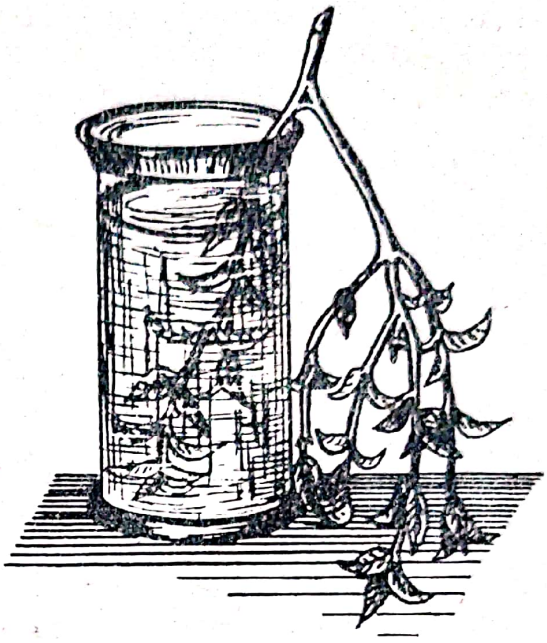


Fig. 53. Experienţă pentru demonstrarea absorbţiei apei prin frunze.

Dacă se repetă experienţa cu frunze a căror epidermă este acoperită cu ceară (frunze de varză) sau cu frunze care au o cuticulă groasă (frunze de nuc, *Begonia*), se va constata că acestea absorb foarte greu apa. După un timp îndelungat, cuticula lor se poate îmbiba cu apă şi devine într-o oarecare măsură permeabilă, permiţînd absorbţia.

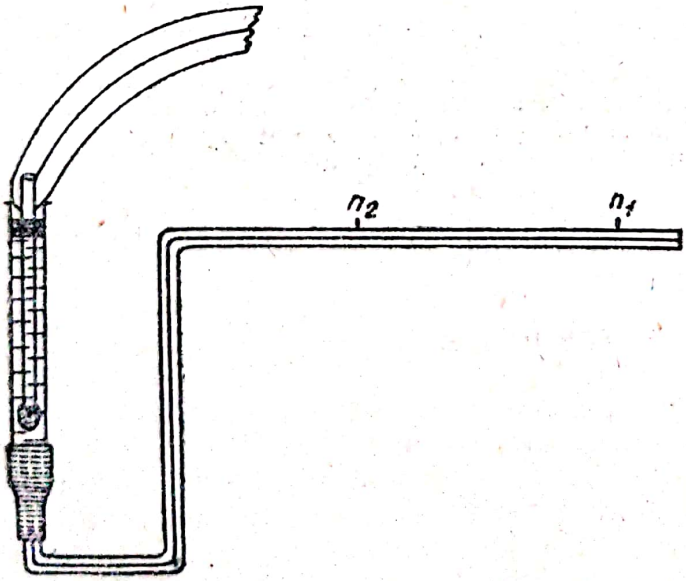


Fig. 54. Instalaţia pentru măsurarea intensităţii absorbţiei apei de către diferitele părţi ale frunzelor: n_1 şi n_2 — nivelul iniţial şi final al apei (după N. Zamfirescu).

c) Punerea în evidenţă a absorbţiei apei de către frunze se poate face şi prin experienţa lui N. Zamfirescu, cu ajutorul metodei tubului capilar, care poate fi folosită şi pentru aprecierea intensităţii absorbţiei. Instalaţia (fig. 54) se compune dintr-un tub de sticlă mai larg (cu dimensiunile corespunzătoare mărimii frunzei de experienţă), al

cărui capăt inferior este subțiat și pus în legătură, prin intermediul unui tub de cauciuc, cu un tub capilar. Acesta este îndoit de trei ori în unghi drept, în așa fel încît capătul lui liber să fie în poziție orizontală. Porțiunea orizontală a capilarului trebuie să aibă o lungime de 40—50 cm. Se fixează instalația la un stativ și se umple cu apă distilată.

Frunza de experiență (de pildă, o frunză de orz) se detașează cu grijă de pe plantă și i se acoperă suprafața de secțiune cu parafină topită. După întărirea acesteia, limbul frunzei se introduce în tubul larg al instalației, în așa fel încît teaca să rămînă în aer, și se toarnă peste apa din tub un strat subțire de ulei pentru a împiedica evaporarea ei. Se notează nivelul apei din tubul capilar (n_1) și după 2—6 ore se face o nouă citire. Se va constata că nivelul apei din capilar s-a deplasat în n_2, înspre tubul larg, ca urmare a faptului că limbul frunzei a absorbit apa.

Metoda permite să se pună în evidență absorbția apei de către diferite porțiuni ale frunzelor (limb, teacă, pețiol) și să se măsoare intensitatea acestui proces. Pentru aceasta este necesar ca după fiecare determinare să se măsoare cu ajutorul unei rigle gradate diferența dintre n_1 și n_2, care se poate exprima în milimetri.

4. EMISIUNEA APEI DE CĂTRE PLANTE

Din cantitatea de apă pe care o absorb, plantele folosesc pentru procesele de sinteză din corpul lor o cantitate foarte mică, și anume 1—2‰. Restul cantității de apă absorbită este eliminată în cea mai mare parte sub formă de vapori, prin transpirație, sau în stare lichidă, sub formă de picături prin fenomenul de gutație.

a. Transpirația

Prin transpirație se înțelege procesul de eliminare a apei de către plante sub formă de vapori. Plantele pierd apa prin transpirație cu intensități diferite, în funcție de structura diferitelor organe. Plantele superioare transpiră cel mai intens prin frunze, care sînt organe subțiri și au o suprafață mare.

Experiența nr. 63

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A TRANSPIRAȚIEI

Fenomenul de transpirație se poate pune ușor în evidență servindu-ne de un ghiveci cu o plantă cu multe frunze (de pildă, o mușcată), care a fost bine udată în prealabil. Se înfășoară ghiveciul cu o hîrtie de staniol sau o hîrtie parafinată, acoperind și pămîntul din el pînă la tulpina plantei, pentru a înlătura orice posibilitate de evaporare a apei prin pereții săi sau la suprafața pămîntului, din interiorul lui.

Astfel pregătit, ghiveciul se așază pe o placă de sticlă și se acoperă cu un clopot care se etanșează bine de placă cu puțină ceară

moale sau plastilină. După un interval de timp se va putea observa că clopotul de sticlă se aburește. Mai tîrziu, pe pereții lui interiori vor apărea picături de apă, ca rezultat al condensării vaporilor de apă emiși de plantă prin fenomenul de transpirație.

Experiența nr. 64

DETERMINAREA INTENSITĂȚII TRANSPIRAȚIEI CU AJUTORUL POTOMETRELOR

Potometrele sînt recipiente de sticlă umplute cu apă și prevăzute cu un tub gradat pe care se poate citi cantitatea de apă eliminată prin transpirație de planta fixată în ele, presupunînd că planta absoarbe o cantitate de apă egală cu cea pe care o pierde prin transpirație. Pentru determinarea intensității transpirației se pot folosi mai multe modele de potometre. Cel mai des utilizate sînt:

— potometrul Mangin (fig. 55, *a*), care constă dintr-un tub de sticlă îndoit în U, avînd fixat la unul din capete un dop prin care trece ramura cu planta, iar la celălalt — un tub de sticlă gradat;

— potometrul Pfeffer (fig. 55, *b*), care este alcătuit dintr-un recipient în formă de U, avînd una din ramuri subțiată și gradată, iar cealaltă largă; în ramura largă se introduce planta de experiență prin intermediul unui dop de cauciuc;

— potometrul Vesque (fig. 51), a cărui folosire a fost descrisă în cadrul experienței nr. 59.

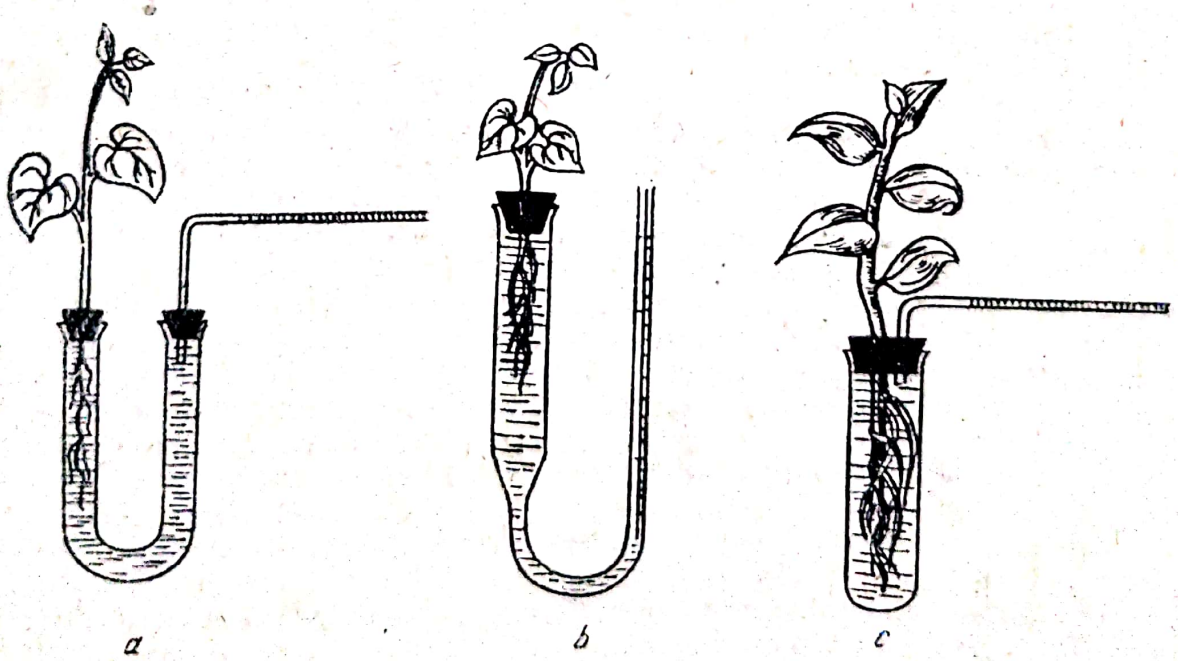


Fig. 55. Diferite tipuri de potometre:
a — potometrul Mangin; *b* — potometrul Pfeffer; *c* — potometrul confecționat dintr-o eprubetă.

La nevoie, pentru determinare se poate confecționa un potometru simplu (fig. 55, c), dintr-o eprubetă cu pereții mai groși, în gura căreia se fixează un dop de cauciuc prevăzut cu două orificii. Unul dintre ele servește pentru fixarea plantei, iar în celălalt se introduce tubul gradat, care poate fi confecționat dintr-o pipetă.

Modul de lucru este următorul: se fixează ramura sau planta întreagă, a cărei transpirație urmează să fie determinată, în orificiul respectiv al dopului. Pentru aceasta, se scoate partea din dop tăiată în forma unui sector, care ajunge pînă la orificiul lui. Se așază apoi porțiunea de dop scoasă la locul ei și se introduce dopul în potometrul umplut cu apă pînă la refuz, în așa fel ca să nu rămînă bule de aer în interiorul lui. Prin introducerea dopului, excesul de apă se urcă în tubul gradat al potometrului. Se etanșează apoi dopul la potometru, umplînd spațiile dintre plantă și dop și dintre dop și potometru cu pu-ţină ceară moale sau cu parafină topită, și se verifică etanșeitatea instalației. Dacă potometrul este etanș, apa nu se va scurge prin tubul gradat al potometrului la înclinarea în mod corespunzător a acestuia și, de asemenea, prin ținerea potometrului în poziție corectă nivelul apei din tubul gradat nu trebuie să se deplaseze în decurs de un minut. Se introduce după aceea o picătură de ulei în tubul gradat, pentru a împiedica evaporarea apei din interiorul lui, se șterg picăturile de apă care s-au scurs pe potometru în timpul montării experienței și se lasă instalația la temperatura camerei. Planta, pierzînd apă prin transpirație, o va înlocui absorbind o cantitate nouă de apă din potometru, fapt ce se va pune în evidență prin deplasarea meniscului în tubul gradat înspre recipient. Notînd nivelul apei din tubul gradat la începutul experienței și după un anumit interval de timp (de pildă o oră), se poate afla volumul de apă care a fost absorbit și eliminat prin transpirație în cursul determinării.

Rezultatele obținute prin această metodă pot fi însoțite de erori mari, deoarece egalitatea dintre cantitatea de apă absorbită și cea transpirată de ramură se menține doar un interval de timp destul de scurt. Aceasta se datorește faptului că în timpul montării experienței se pot astupa vasele de lemn ale ramurii și ca urmare are loc micșorarea cantității de apă absorbită în raport cu cea eliminată prin transpirație. De asemenea, în unele cazuri, plantele cu care se lucrează pot avea un deficit de apă, și atunci absorbția depășește transpirația. În bună parte, erorile pot fi evitate dacă ramura folosită se taie sub apă (pentru a înlătura eventuala astupare a vaselor de lemn cu bule de aer) și dacă apa eliminată prin transpirație se determină nu după volum (care se citește pe tubul gradat), ci prin cîntărirea potometrului la începutul și la sfîrșitul experienței.

Pentru a calcula intensitatea transpirației se procedează în felul următor: se iau frunzele de pe ramura folosită în experiență și li se desenează exact conturul pe o hîrtie cu o structură foarte uniformă (de pildă, pe hîrtie de calc). După aceea se decupează mulajele astfel obținute și se cîntăresc cu o precizie de 0,01 g. Paralel se decupează din aceeași hîrtie o bucată în formă de pătrat, cu o suprafață de 1 dm^2.

și i se determină greutatea. Întrucît hîrtia folosită este aceeași, se poate considera că între greutatea pătratului cu suprafața de 1 dm^2 și greutatea mulajelor există același raport ca între suprafețele lor. Presupunînd că greutatea hîrtiei cu suprafața de 1 dm^2 este de a grame, iar greutatea mulajului de b grame, suprafața frunzei se calculează după următorul raționament:

dacă la o greutate de a g corespunde o suprafață de 1 dm^2
atunci la o greutate de b g vor corespunde . . . x dm^2
de unde suprafața S a frunzelor va fi:

$$S = \frac{b \times 1}{a}, \text{ adică } \frac{b}{a}$$

rezultatul fiind exprimat în decimetri pătrați.

Cunoscînd suprafața frunzelor și cantitatea de apă, exprimată în grame, care a fost eliminată de ramură sau plantă în intervalul de timp cît a durat experiența (o oră), se poate calcula cu ajutorul unei reguli de trei simplă intensitatea transpirației. Dacă, de pildă, cantitatea de apă transpirată într-o oră este egală cu c grame, iar suprafața frunzelor este de S dm^2, atunci pe baza raționamentului:

dacă S dm^2 suprafață foliară elimină c g apă
atunci 1 dm^2 va elimina . . . . x g
Intensitatea transpirației va fi:

$x = \frac{c \times 1}{S}$ și se exprimă în g apă/dm^2/h.

Totodată, se recomandă să se cîntărească frunzele de pe ramură și să se raporteze intensitatea transpirației și la unitatea de greutate proaspătă (de pildă, la 100 g de substanță proaspătă). În acest caz, pentru calcularea intensității transpirației se aplică formula:

$$\frac{c \times 100}{g}$$

în care:

c reprezintă cantitatea de apă (în grame) eliminată de frunze în timp de o oră;
g — greutatea frunzelor (în grame).

Experiența nr. 65

DETERMINAREA INTENSITĂȚII TRANSPIRAȚIEI PRIN METODA COLORIMETRICĂ (METODA STAHL)

Determinarea intensității transpirației prin această metodă se bazează pe însușirea sărurilor de cobalt uscate de a trece în prezența vaporilor de apă de la culoarea albastră la culoarea roz. Cel mai des se folosește clorura de cobalt ($CoCl_2$). Din această substanță se prepară

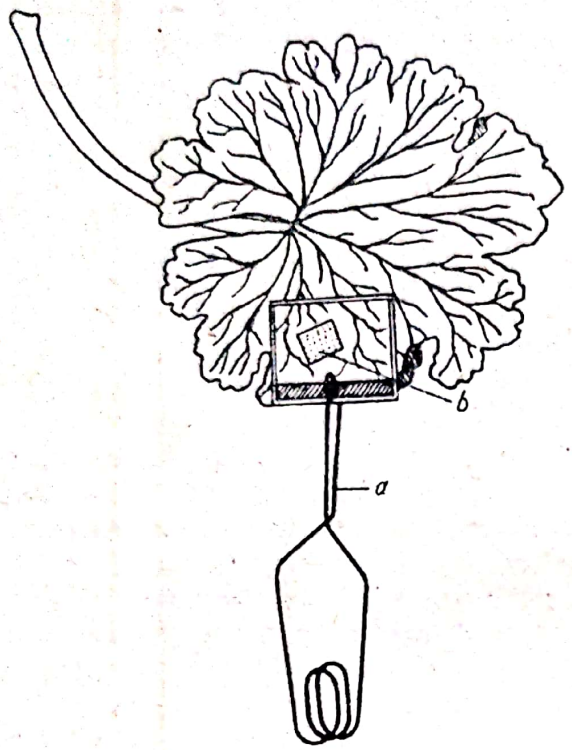


Fig. 56. Determinarea intensității transpirației prin metoda Stahl:
a — clema cu arc; *b* — hîrtia îmbibată cu soluția de clorură de cobalt.

o soluție cu concentrația de 5% și se înmoaie în ea bucăți mai mari dintr-o hîrtie de filtru cu o stuctură omogenă, avînd grijă ca acestea să se îmbibe cît mai uniform. După îmbibare se lasă să scurgă excesul de soluție de pe ele și se usucă într-un termostat. Hîrtiile uscate, care au o culoare albastră, se taie apoi în bucăți mici (de pildă, cu dimensiunea de $0{,}5 \times 0{,}5$ cm) și se păstrează în tuburi de sticlă bine închise, în care s-a pus puțină clorură de calciu, ca să se creeze o atmosferă perfect uscată.

Pentru determinare se ia cu pensa o bucată din hîrtiile pregătite și se așază pe una din fețele frunzei de cercetat, fixîndu-se cu ajutorul unei cleme cu arc, prevăzută cu două plăcuțe de sticlă (fig. 56). La nevoie, hîrtia se poate fixa pe suprafața frunzei cu două lame de sticlă, care se strîng una de alta, punînd la extremitățile lor cîte un inel de cauciuc. Intensitatea transpirației se apreciază prin măsurarea cu ajutorul unui cronometru a timpului necesar virării culorii hîrtiei de la albastru în roz. Se face apoi exact în același mod o determinare pe cealaltă față a frunzei.

Deși nu este strict cantitativă, această metodă prezintă avantajul că poate fi folosită cu ușurință pe teren și permite compararea, într-un timp scurt și în condiții naturale, a intensității transpirației la frunze care aparțin unor plante diferite. De asemenea, cu ajutorul ei se poate pune în evidență ușor deosebirea dintre intensitatea cu care transpiră cele două fețe ale aceleiași frunze.

Experiența nr. 66

DETERMINAREA INTENSITĂȚII TRANSPIRAȚIEI PRIN METODA GARREAU

Această metodă permite determinarea intensității transpirației separat pentru fața superioară și cea inferioară a frunzelor, fără ca ele să fie detașate de pe plantă.

Pentru determinare se folosesc două clopote mici de sticlă, închise la partea superioară cu cîte un dop. Ele trebuie să aibă același diametru la bază și marginile bine șlefuite pentru ca să se poată alipi perfect prin baza lor. La nevoie aceste clopote se pot confecționa din două borcănașe de sticlă, cărora li se taie fundul și li se șlefuiesc marginile rezultate în urma tăierii.

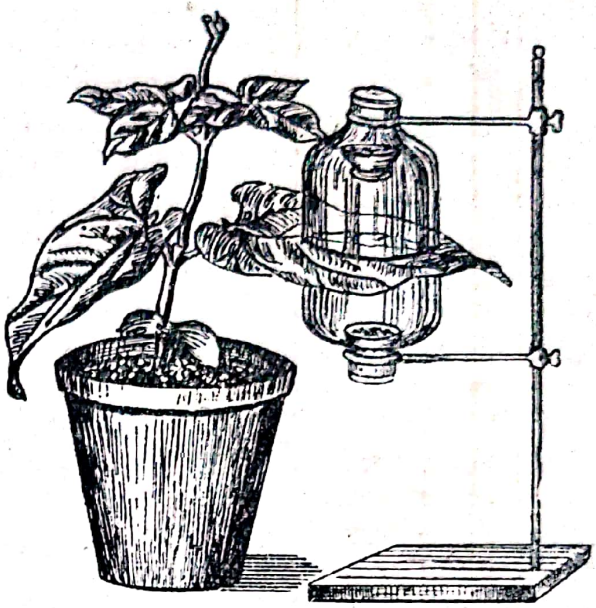


Fig. 57. Experiența lui Garreau (după G. Bonnier — Leclerc du Sablon).

Frunza plantei de cercetat (*Primula. Aspidistra, Pelargonium, Begonia* etc.) se așază între cele două clopote, care se prind la un stativ metalic după ce în prealabil s-a fixat în interiorul lor (ca în fig. 57) cîte o capsulă de porțelan sau de sticlă. Înainte de introducerea lor sub clopote, se pune în aceste capsule cîte o cantitate mică de $CaCl_2$ și li se determină prin cîntărire greutatea cu o precizie de 0,01 g. De asemenea, pentru asigurarea unei etanșări bune, marginile clopotelor se ung bine cu vaselină sau lanolină, înainte de așezarea frunzei între ele. Se notează momentul în care s-a terminat montarea experienței și după un interval de timp de cîteva ore se scot capsulele cu $CaCl_2$ și se cîntăresc din nou. Se va constata că greutatea lor va fi mai mare. Cantitatea de apă (în grame) eliminată prin transpirație de către cele două fețe ale frunzei se poate afla făcînd diferența dintre greutatea finală și cea inițială a capsulelor. Rezultatul obținut permite să se pună în evidență dacă frunza transpiră sau nu cu aceeași intensitate pe cele două fețe ale limbului.

Pentru calcularea intensității transpirației procedăm în felul următor: se însumează valorile găsite (diferențele dintre greutatea finală și inițială a capsulelor) pentru a se stabili cantitatea totală de apă eliminată de porțiunea de frunză care a stat între clopotele de sticlă și se calculează suprafața acestei porțiuni. Ea va fi egală cu suprafața bazei clopotelor și se calculează după formula πr^2, în care r reprezintă raza lor. Cunoscînd durata experienței (în ore), cantitatea de apă eliminată de frunze (în grame) și suprafața limbului care a fost cuprinsă sub clopote (în cm^2), se poate calcula intensitatea transpirației, care se exprimă în g apă/dm^2/h.

Cu această metodă nu se pot obține valori exacte ale intensității transpirației, deoarece $CaCl_2$, în urma absorbirii vaporilor de apă, provoacă o atmosferă uscată în jurul frunzei, determinînd o transpirație mai intensă a acesteia.

Experiența nr. 67

DETERMINAREA INTENSITĂȚII TRANSPIRAȚIEI PRIN METODA GRAVIMETRICĂ

a) Pe platanul unei balanțe se așază un ghiveci cu o plantă (mușcată, *Primula* etc.), după ce în prealabil a fost bine udată, iar ghiveciul și suprafața pămîntului din el au fost izolate de aerul înconjurător. Acest lucru se face acoperind pînă la tulpina plantei pămîntul din ghiveci cu o hîrtie de staniol sau o hîrtie parafinată și înfășurînd ghiveciul într-o altă bucată din aceeași hîrtie. În acest fel se împiedică evaporarea apei la suprafața ghiveciului și a pămîntului din interiorul lui. Se aduce balanța în echilibru prin adăugarea greutăților corespunzătoare pe celălalt platan și se lasă planta în repaus. După un interval de timp de o oră se observă că balanța s-a dezechilibrat datorită eliminării apei de către planta din ghiveci prin transpirație. Prin adăugarea de greutăți pe platanul cu planta pînă la reechilibrarea balanței, se va putea stabili cantitatea de apă, exprimată în grame, pierdută de plantă în intervalul de timp dat.

Cu ajutorul acestei metode se poate studia influența diferiților factori externi asupra intensității transpirației. Astfel, de pildă, pentru a studia influența intensității luminii se ține ghiveciul cu planta, pe rînd, în lumină intensă, în lumină difuză și apoi în întuneric. Influența temperaturii se pune în evidență ținînd planta la început la temperatura camerei și apoi într-un loc cu o temperatură mai ridicată. Studierea influenței curenților de aer se face ținînd întîi planta într-o atmosferă lipsită de curenți (în cameră), și apoi se repetă determinarea ținînd-o în apropierea unui ventilator. În sfîrșit, pentru a studia influența umidității aerului, se așază ghiveciul cu planta pe o placă de sticlă și se acoperă cu un clopot care se etanșează bine de placă cu puțină ceară sau plastilină; rezultatul obținut se compară cu intensitatea transpirației plantei în absența clopotului de sticlă. După ce s-a studiat influența acestor factori, se calculează suprafața foliară a plantei (v. experiența nr. 64). Cunoscînd suprafața foliară (în decimetri pătrați), durata fiecărei experiențe (în ore) și cantitatea de apă pierdută de plantă în cursul fiecărei determinări, se calculează intensitatea transpirației, care se exprimă în g apă/dm^2/h.

Metoda prezintă avantajul că permite determinarea intensității transpirației la planta întreagă, însă rezultatele obținute pot fi însoțite de erori datorită faptului că, prin izolarea pentru un timp mai îndelungat a ghiveciului și a pămîntului din el de aerul înconjurător, se îngreuiază respirația rădăcinilor și acest lucru modifică absorbția apei de către plantă.

b) Influența factorilor externi amintiți asupra intensității transpirației poate fi studiată și la frunze detașate. Frunza de experiență se

detaşează de plantă prin tăierea peţiolului sub apă. Imediat după detaşare se introduce cu peţiolul într-un balon Erlenmeyer, în care se pune în prealabil apă. Se adaugă peste apa din balon un strat de ulei pentru a împiedica evaporarea ei şi se cîntăreşte vasul astfel pregătit. După o oră, în care balonul Erlenmeyer cu frunza poate fi ţinut în condiţiile corespunzătoare pentru urmărirea influenţei factorului extern studiat, se cîntăreşte balonul cu frunza din nou. Diferenţa dintre greutatea iniţială şi cea obţinută la a doua cîntărire va reprezenta apa eliminată prin transpiraţie şi se notează în grame. Se determină apoi suprafaţa frunzei (v. experienţa nr. 64) şi, cunoscînd durata experienţei (o oră), se calculează intensitatea transpiraţiei în g apă/dm²/h.

Experienţa poate fi făcută şi cu ramuri detaşate. În acest caz, pentru calcularea rezultatului trebuie să se determine suprafaţa tuturor frunzelor de pe ramura cu care s-a făcut experienţa.

Experienţa nr. 68

DETERMINAREA INTENSITĂŢII TRANSPIRAŢIEI CU AJUTORUL BALANŢEI DE TORSIUNE (METODA DE MOMENT A LUI L. A. IVANOV)

Metoda constă în cîntărirea frunzelor, a căror transpiraţie se determină, imediat după detaşarea lor de pe plante şi repetarea acestei cîntăriri după 2—3 minute, presupunînd că într-un interval de timp atît de scurt intensitatea transpiraţiei se menţine la aceeaşi valoare ca înaintea detaşării. Cîntăririle trebuie făcute repede la o balanţă de torsiune. Înainte de efectuarea determinărilor, balanţa de torsiune (fig. 58) se aşază în poziţie orizontală prin rotirea celor două şuruburi de la picioarele ei, pînă cînd bula de aer de la nivelă va ajunge în centrul cercului de pe geamul acesteia. Se stabileşte apoi punctul zero al balanţei în felul următor: se deschide balanţa prin manevrarea în sens corespunzător a tijei *a* şi se roteşte maneta *b* de la partea superioară, în aşa fel ca acul indicator mare *c* de pe cadranul gradat în miligrame să ajungă în dreptul diviziunii zero. În această situaţie, acul mobil al balanţei *f*, care se vede printr-o fereastră

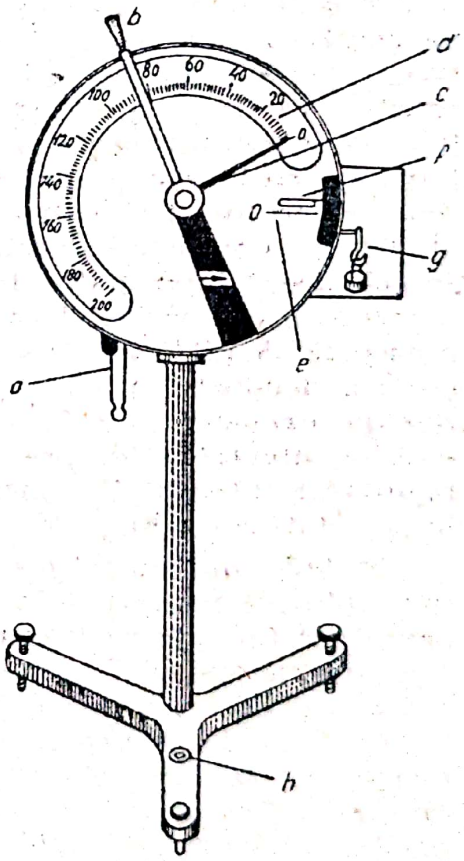


Fig. 58. Balanţa de torsiune: *a* — tija pentru deschiderea şi închiderea balanţei; *b* — maneta de deplasare a acului indicator de pe cadran; *c* — acul care indică greutatea pe cadran; *d* — cadranul gradat în mg; *e* — punctul zero al balanţei; *f* — acul mobil al balanţei; *g* — cîrligul la care se suspendă platanul sau obiectele care urmează să fie cîntărite; *h* — nivelă (după Skazkin).

aflată sub porțiunea gradată în partea dreaptă a cadranului, trebuie să se oprească după cîteva oscilații în dreptul liniei orizontale de pe cadran, care indică punctul zero. Dacă acest lucru nu se întîmplă, se aduce acul mobil în dreptul liniei orizontale prin rotirea șurubului corector, care se găsește în spatele cadranului gradat. După stabilirea punctului zero se închide balanța și se agață de cîrligul ei *g* un platan mic, confecționat din hîrtie de staniol. Greutatea acestuia nu trebuie să depășească 100 mg și se stabilește cu precizie. Pentru aceasta, se deschide balanța și se deplasează cu ajutorul manetei *b* acul mare pe diviziunile cadranului pînă cînd acul indicator mic se va opri exact în dreptul liniei orizontale care indică punctul zero. Se închide apoi balanța și se citește greutatea în miligrame pe cadranul gradat în dreptul acului indicator mare.

Frunza căreia îi determinăm intensitatea transpirației se detașează de pe plantă tăindu-i pețiolul cu un cuțit bine ascuțit și se așază imediat cu ajutorul unei pense pe platanul de staniol. Se cîntărește frunza cît se poate de repede și apoi se ține în locul din care a fost detașată de pe plantă, pentru ca să stea exact în aceleași condiții ca înainte de începerea determinării. După 2—3 minute se repetă cîntărirea. Se va constata că de data aceasta greutatea ei va fi mai mică, datorită faptului că a pierdut apă prin transpirație. Diferența dintre cele două cîntăriri va arăta apa pierdută de frunză (în miligrame) în intervalul de timp respectiv. Se determină apoi suprafața frunzei (v. experiența nr. 64) și, cunoscînd durata determinării (în minute) și apa pierdută, se calculează intensitatea transpirației, exprimînd-o în g apă/dm^2/h. Se recomandă ca rezultatul să se exprime și față de unitatea de greutate proaspătă, de pildă în g apă/100 g substanță proaspătă/h. Acest lucru este necesar deoarece, în cazul cînd se compară transpirația la plante diferite (de exemplu, mezofite și xerofite), frunzele acestora avînd grosimi diferite, greutatea lor prezintă variații mari în raport cu suprafața și raportarea intensității transpirației numai la unitatea de suprafață duce la rezultate eronate.

Metoda de moment prezintă o serie de avantaje, printre care amintim faptul că poate fi folosită ușor pe teren, necesită un timp scurt și permite determinarea transpirației fără a modifica prea mult gradul de saturare cu apă al frunzelor. Pentru determinări mai precise se recomandă ca tăierea pețiolurilor frunzelor să se facă sub parafină topită. În acest fel se împiedică uscarea suprafeței de secțiune și eventuala creștere bruscă a intensității transpirației, care ar fi provocată de absorbția mai ușoară a apei din vasele de lemn în urma pătrunderii aerului în interiorul lor.

b. Gutația

Prin gutație se înțelege eliminarea apei în stare lichidă (sub formă de picături) de către plantele intacte. Picăturile de apă de gutație apar la unele plante în vîrful frunzelor (la gramineele tinere, la aroidee), iar la altele la vîrful dinților

de pe frunze. Acest fenomen este larg răspîndit în natură şi se observă în nopţile de vară reci care urmează după zile călduroase, deoarece, în aceste cazuri, solul menţinînd mai mult timp căldura, favorizează absorbţia apei de către rădăcini, iar transpiraţia este mult micşorată, din cauză că atmosfera se răceşte mai repede şi îşi măreşte umiditatea.

Experienţa nr. 69

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A GUTAŢIEI

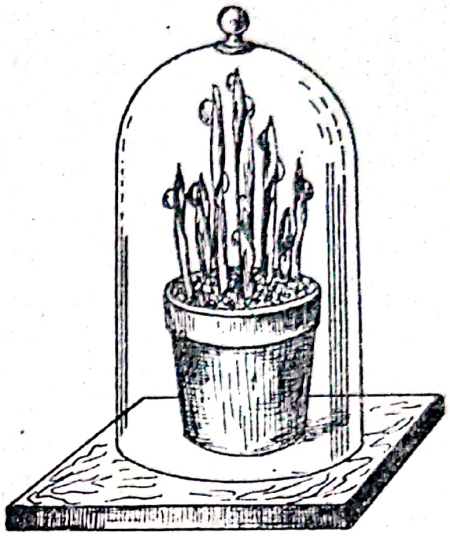


Fig. 59. Punerea în evidenţă a gutaţiei (după G. Bonnier — Leclerc du Sablon).

Pentru punerea în evidenţă a gutaţiei se procedează în modul următor:

a) Se ia un ghiveci cu plante tinere (de 8—10 zile) de grîu sau de porumb şi, după ce se udă bine plantele, se aşază ghiveciul pe o placă de sticlă. Se acoperă apoi cu un clopot de sticlă, care se etanşează de placă cu ajutorul unei cantităţi mici de ceară sau plastilină. Ţinînd instalaţia la întuneric la temperatura camerei, după cîteva ore se va putea observa în vîrful fiecărei frunzuliţe cîte o picătură de apă (fig. 59). Din timp în timp, aceste picături, mărindu-se alunecă în lungul frunzei şi în locul lor apar altele asemănătoare.

Apa eliminată prin gutaţie se deosebeşte de picăturile de rouă prin faptul că acestea sînt formate din apă distilată, în timp ce apa gutată conţine diferite substanţe dizolvate. Pentru a demonstra acest lucru, se culeg pe o lamă de sticlă cîteva picături de apă gutată, care se evaporă ţinînd lama deasupra flăcării unui bec de gaz. Se va constata că în locul unde au fost depuse picăturile va rămîne un sediment, albicios. Repetînd aceeaşi operaţie cu picături de rouă, se va constata că acestea nu lasă nici o urmă.

b) Fenomenul de gutaţie mai poate fi pus în evidenţă cu ajutorul unui tub de sticlă în formă de U, care are o ramură mai lungă cu diametrul mai mic şi o ramură mai scurtă şi largă. Se introduce în ramura largă a tubului apă pînă cînd se umple pînă la refuz şi se astupă apoi ermetic gîtul lui cu un dop de cauciuc perforat, prin care se trece în prealabil o ramură de *Fuchsia*. Se toarnă apoi, cu ajutorul unei pîlnii, o coloană de 40—50 cm de mercur în ramura lungă a tubului în U. Se introduce tubul în formă de U într-un vas mai larg care se acoperă cu un carton, trecînd ramura lungă printr-un orificiu făcut pe suprafaţa acestuia, şi se aşază instalaţia la umbră sau la întuneric. Datorită faptului că mercurul măreşte presiunea hidrostatică în interiorul ramu-

Scanned with OKEN Scanner

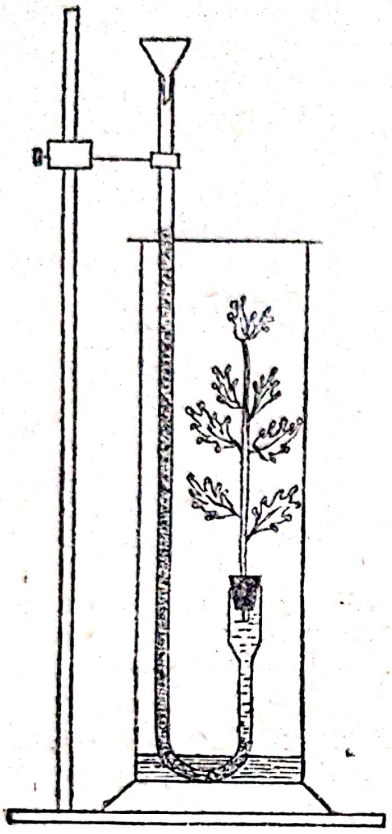


Fig. 60. Provocarea gutației prin mărirea presiunii hidrostatice în interiorul plantei.

rii, apa este împinsă în frunze și eliminată sub formă de picături în dreptul dinților acestora (fig. 60).

5. CIRCULAȚIA APEI IN CORPUL PLANTELOR

În corpul plantelor inferioare pluricelurare, apa absorbită este condusă de la o celulă la alta sub acțiunea forței de sucțiune. La plantele superioare aeriene, apa este condusă prin celule vii și printr-un sistem special de conducere reprezentat de vasele de lemn, alcătuite din celule moarte, care servesc la conducerea în masă a apei în corpul acestor plante. Prin celulele vii, circulația apei se face mult mai greu, datorită rezistenței pe care o întîmpină apa la străbaterea membranelor celulare.

Experiența nr. 70

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A CĂILOR DE CONDUCERE A APEI ÎN CORPUL PLANTELOR

Punerea în evidență a căilor de conducere a apei în corpul plantelor se face prin următoarele experiențe:

a) Se iau flori albe (lăcrămioare, garoafe etc.) al căror peduncul, după ce a fost tăiat în prealabil sub apă, se introduce într-o eprubetă care conține o soluție de eozină 0,1% sau cerneală roșie. Urmărind cu atenție florile, se va constata după un timp că nervurile petalelor se colorează în roșu, datorită soluției colorate care s-a ridicat în vasele de lemn.

Experiența poate fi efectuată și cu tulpini de plante etiolate (fasole, porumb, floarea-soarelui, crescute în ghivece la întuneric). În acest caz, nervurile frunzelor se colorează în roșu. Secționînd transversal o astfel de tulpină, în urma examinării suprafeței de secțiune, se poate vedea cu ochiul liber că soluția colorată a înroșit doar vasele de lemn, fapt ce demonstrează că acestea servesc la conducerea apei.

b) Se taie două fragmente dreptunghiulare (lungi de 5—6 cm și late de 4—5 cm) dintr-o frunză cu nervațiune paralelă (frunză de *Aspidistra* sau de porumb) și se așază într-un cristalizor care conține puțină apă, în așa fel ca unul dintre fragmente să stea cu nervurile paralele cu suprafața apei, iar celălalt — cu nervurile perpendiculare pe suprafața acesteia (fig. 61). Ținînd cristalizorul la temperatura camerei, se va constata după un timp că fragmentul cu nervurile paralele cu suprafața apei se veștejește în porțiunea situată în aer, deoarece nu este aprovizionat cu apă, în timp ce fragmentul celălalt își menține turgescența.

c) Dintr-o ramură de soc se taie cinci fragmente lungi de 10—15 cm, în așa fel ca fiecare fragment să aibă la partea superioară cîte doi muguri. Primului fragment i se îndepărtează cu ajutorul unui cuțit scoarța (tot țesutul moale care se cojește ușor, pînă la lemn), pe o distanță de 5—6 cm începînd de la bază (fig. 62, *a*). La al doilea fragment de ramură se îndepărtează pe aceeași distanță măduva, cu ajutorul unei sîrme cu vîrful lățit și ușor recurbat (fig. 62, *b*). Celui de-al treilea fragment i se îndepărtează pe aceeași distanță atît scoarța cît și măduva (fig. 62, *c*). La al patrulea fragment se întrerup toate țesuturile din lungul ramurii, făcîndu-se niște crestături cu o lățime de 3—4 mm, de jur împrejurul ramurii, la diferite niveluri, începînd de la o distanță de 5—6 cm de la capătul inferior al fragmentului (fig. 62, *d*). Ultimul fragment se lasă intact și servește ca martor (fig. 62, *e*). După aceasta se introduc fragmentele într-un pahar în care se toarnă apă, pînă cînd aceasta va acoperi extremitatea inferioară a fragmentelor pe o distanță de 2—3 cm. Se lasă vasul la temperatura camerei și se schimbă zilnic apa. După un timp se va observa că primele trei fragmente de ramură și martorul vor forma frunze, în timp

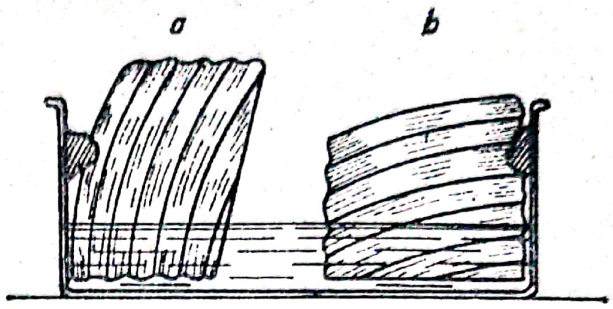


Fig. 61. Experiență cu fragmente de frunze cu nervuri paralele, pentru demonstrarea faptului că apa este condusă prin nervuri:

a — fragmentul de frunză așezat cu nervurile perpendicular pe suprafața apei; *b* — fragmentul de frunză așezat cu nervurile paralel cu suprafața apei.

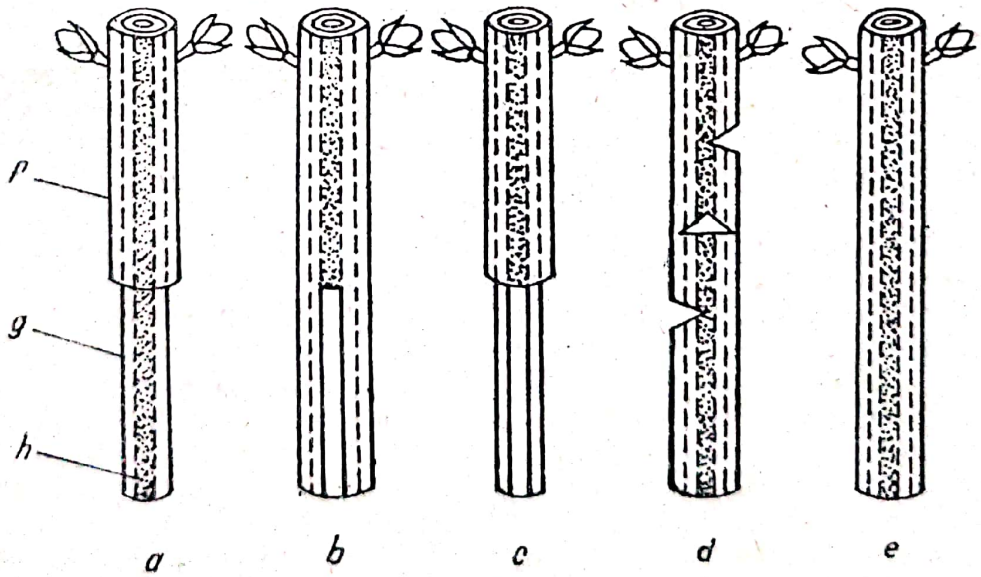


Fig. 62. Experiența cu fragmente de ramuri de soc pentru localizarea conducerii apei:

a — ramură fără scoarță la partea inferioară; *b* — ramură fără măduvă la partea inferioară; *c* — ramură fără scoarță și măduvă la partea inferioară; *d* — ramură cu toate țesuturile întrerupte în lungul ei; *e* — ramură intactă (martor); *f* — scoarța; *g* — lemnul; *h* — măduva.

ce fragmentul al patrulea, căruia i s-au secționat și vasele de lemn, nu-și dezvoltă mugurii și se usucă, fapt ce demonstrează rolul vaselor de lemn în conducerea apei.

d) Dintr-un tubercul de cartof se taie un fragment de formă paralelipipedică (cu dimensiunile de $5 \times 2 \times 2$ cm) și se așază cu una din extremități într-un cristalizor cu apă, în așa fel ca aproximativ jumătate din el să rămînă în aer. După un timp se va constata că porțiunea situată deasupra nivelului apei își pierde turgescența. Celulele din această regiune, fiind în prezența aerului, pierd o cantitate mare de apă, care în lipsa unui țesut conducător nu poate fi compensată, deoarece prin celulele parenchimatoase apa este condusă cu multă greutate.

6. FORȚELE CARE CONTRIBUIE LA ASCENSIUNEA APEI ÎN CORPUL PLANTELOR

Primăvara, înainte de apariția primelor frunze, ascensiunea apei în corpul plantelor este determinată de presiunea radicală, datorită căreia apa ajunge pînă la muguri. După apariția frunzelor, rolul predominant în ascensiunea apei revine forței de sucțiune a celulelor din frunze.

Experiența nr. 71

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A PRESIUNII RADICALE

a) Primăvara, înainte de desfacerea mugurilor, se secționează transversal o coardă de viță-de-vie, la o înălțime de 15—20 cm de la suprafața solului. Se fixează repede pe extremitatea secționată un tub de cauciuc, lung de 5—6 cm, cu un diametru interior corespunzător cu diametrul corzii secționate, iar în capătul opus al acestuia se introduce un tub de sticlă de 40—50 cm lungime. La montarea experienței trebuie să avem grijă ca pereții tubului de cauciuc să cuprindă atît coarda de viță cît și tubul de sticlă, în așa fel încît să nu rămînă nici un spațiu liber. La nevoie, etanșarea se poate asigura legînd strîns tubul de cauciuc în dreptul porțiunilor respective cu cîte o bucată de sfoară. Se introduce apoi în tubul de sticlă apă (sau apă colorată cu puțin albastru de metilen), pînă cînd lichidul va umple tubul de cauciuc și nivelul lui se va putea observa în tubul de sticlă. După aceea, se fixează tubul de sticlă în poziție verticală (la un stativ sau un băț înfipt în apropierea corzii secționate) și se notează cu un creion dermatograf sau o hîrtie gumată nivelul inițial al lichidului din tub. Se va putea observa după un interval de timp că nivelul lichidului din tubul de sticlă se ridică treptat, datorită sevei brute, care iese din coarda de viță, împinsă fiind de presiunea radicală (fig. 63).

b) Experiența poate fi executată și în laborator, folosind plante de *Fuchsia*, de floarea-soarelui sau de mușcată, crescute în ghivece. Se udă bine planta din ghiveci, se secționează transversal tulpina ei la o înălțime de 2—3 cm de la suprafața pămîntului din ghiveci și se montează experiența ca în cazul precedent. După cîteva ore se va vedea că, da-

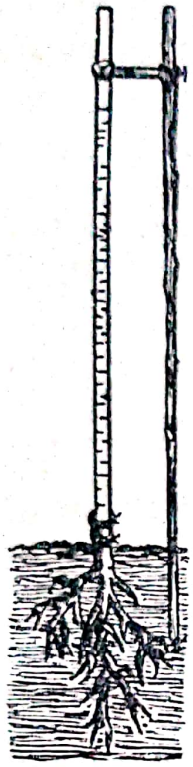


Fig. 63. Punerea în evidenţă a presiunii radicale la corzile de viţă-de-vie (după G. Bonnier).

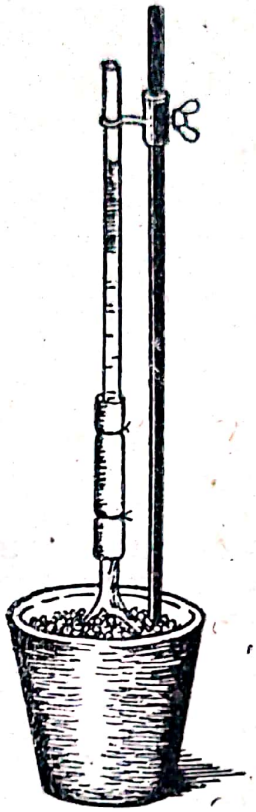


Fig. 64. Punerea în evidenţă a presiunii radicale la plante crescute în ghivece (după Skazkin).

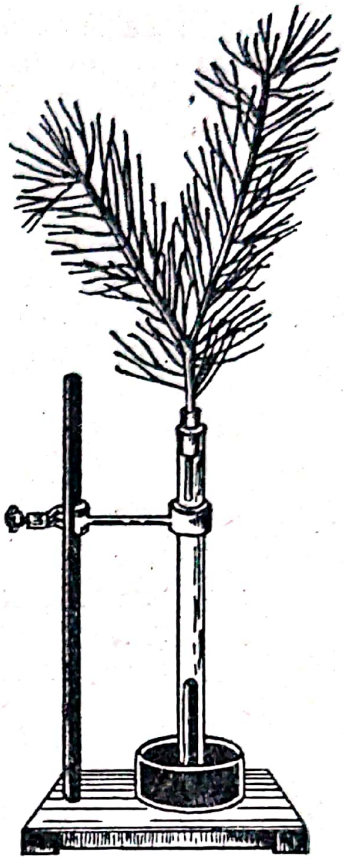


Fig. 65. Punerea în evidenţă a rolului transpiraţiei în ascensiunea apei în corpul plantelor (după Skazkin).

torită sevei împinse de către rădăcinile plantei, nivelul lichidului din tub se ridică (fig. 64).

Experienţa nr. 72

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A ROLULUI TRANSPIRAŢIEI ÎN CONDUCEREA APEI ÎN CORPUL PLANTELOR

Pentru experienţă se foloseşte un tub de sticlă cu pereţii groşi, lung de 30—40 cm. Se ia o ramură de conifer (brad sau pin) şi se introduce cu capătul inferior în orificiul unui dop de cauciuc, ales în aşa fel încît să poată închide foarte bine extremitatea superioară a tubului de sticlă. Porţiunea de ramură care intră în orificiul dopului se curăţă de scoarţă (pînă la lemn) şi trebuie să fie foarte strîns fixată de dop. După fixarea ramurii în dopul de cauciuc, se astupă tubul la capătul inferior cu degetul şi se umple cu apă fiartă, care a fost răcită în prealabil. Se fixează apoi dopul cu ramura în capătul superior al tubului şi, ţinînd în continuare degetul la extremitatea lui inferioară, se introduce această porţiune a sa într-un vas cu mercur (fig. 65). După

aceasta se ia degetul de la capătul inferior al tubului şi se apasă bine dopul de cauciuc în interiorul lui. În acest fel se provoacă ieşirea unei cantităţi mici de apă din tub şi pătrunderea în interiorul lui a unei coloane mici de mercur. În timpul montării experienţei trebuie să avem grijă ca în interiorul tubului să nu pătrundă nici o bulă de aer. Se notează pe tub poziţia nivelului mercurului şi se lasă instalaţia timp de cîteva ore în repaus. Frunzele de pe ramură, pierzînd apa prin transpiraţie, o înlocuiesc cu cea din vasele de lemn, în care intră cantităţi noi de apă din tubul de sticlă. În urma acestui fapt, în tub se creează o presiune negativă, care determină urcarea mercurului în interiorul lui.

Experienţa nr. 73

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A ROLULUI TENSIUNII VAPORILOR DE APĂ ŞI A COEZIUNII APEI ÎN CONDUCEREA ACESTEIA (EXPERIENŢA LUI ASKENASY)

Experienţa se face cu ajutorul unui tub de sticlă cu pereţii mai groşi, care are la unul din capete o pîlnie fixată foarte strîns cu ajutorul unui dop de cauciuc sau prin sudare. Se toarnă în pîlnie o pastă de gips consistentă, obţinută prin amestecarea unei cantităţi convenabile de praf de gips cu apă care se adaugă treptat, şi se lasă să se usuce gipsul în interiorul pîlniei pînă ce se formează un bloc solidificat. După aceasta se umple tubul de sticlă prin capătul opus pîlniei cu apă fiartă şi răcită în prealabil. Umplerea se face cu ajutorul unei pipete cu vîrful foarte subţire şi cu multă precauţie, pentru ca în interiorul tubului să nu rămînă nici o bulă de aer. După ce se umple tubul pînă la refuz cu apă, se introduce cu capătul inferior într-un vas cu mercur şi se fixează la un stativ metalic. Se umectează apoi blocul de gips cu apă şi se lasă instalaţia în repaus. După cîtva timp se va putea observa că mercurul se urcă în tubul de sticlă (fig. 66). Urcarea mercurului în tub se explică în felul următor: la suprafaţa blocului de gips are loc evaporarea apei, fapt ce determină mărirea concavităţii meniscurilor de apă din spaţiile capilare ale blocului. Întrucît aceste meniscuri tind să revină la poziţia de echilibru, ele aspiră apa din blocul de gips, iar acesta aspiră apa din tubul de sticlă. Datorită coeziunii mari care există între moleculele de apă şi coeziunii dintre moleculele de apă şi cele de mercur, acesta din urmă se urcă în tub.

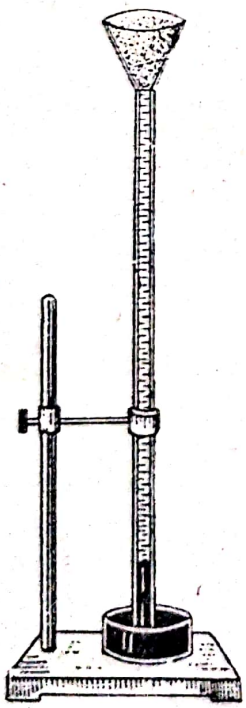


Fig. 66. Evidenţierea rolului tensiunii vaporilor de apă şi a coeziunii apei în conducerea ei în corpul plantelor.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 74

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A ROLULUI FORȚEI DE SUCȚIUNE A FRUNZELOR ÎN CONDUCEREA APEI ÎN CORPUL PLANTELOR (EXPERIENȚA LUI DIXON)

Pentru a pune în evidență rolul pe care îl are forța de sucțiune în conducerea apei în corpul plantelor, ne folosim tot de o ramură de conifer, fixată cu ajutorul unui dop de cauciuc într-un tub de sticlă plin cu apă, așezat cu capătul inferior într-un vas cu mercur. Înainte de montarea experienței, la extremitatea superioară a tubului se adaptează, cu ajutorul unui dop de cauciuc perforat, un clopot de sticlă așezat cu gura în sus. Operațiile necesare pentru fixarea ramurii în tub, umplerea acestuia cu apă și scufundarea lui în vasul cu mercur sînt descrise la experiența nr. 72. După montarea instalației se pune în clopotul de sticlă apă, pînă cînd ea va acoperi ramura în întregime, pentru a împiedica transpirația frunzelor (fig. 67). Lăsînd experiența în repaus, după cîtva timp se va putea observa că mercurul se urcă în tubul de sticlă. Aceasta se datorește forței de sucțiune a celulelor frunzelor, care, absorbind apa din vasele de lemn, fac ca aceasta să fie înlocuită cu apa din tubul de sticlă, determinînd în interiorul lui o presiune negativă care are ca rezultat urcarea mercurului.

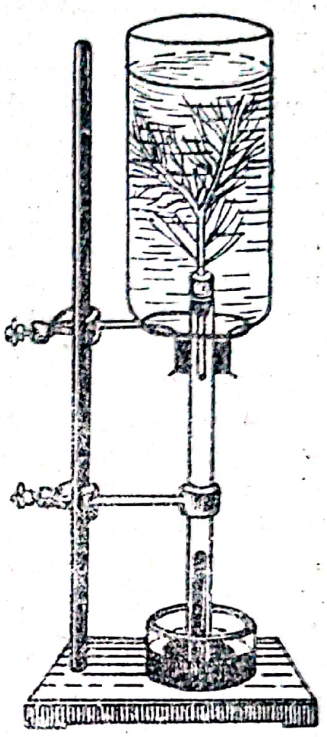


Fig. 67. Punerea în evidență a rolului forței de sucțiune a frunzelor în conducerea apei în corpul plantelor.

7. BILANȚUL DE APĂ AL PLANTELOR ȘI REZISTENȚA PLANTELOR LA SECETĂ

Experiența nr. 75

BILANȚUL DE APĂ AL PLANTELOR

Cantitatea de apă din corpul plantelor variază între limite destul de mari sub influența condițiilor mediului înconjurător (temperatură, umiditate, intensitatea luminii, curenții de aer etc.), care se modifică în permanență și produc schimbări în raportul dintre intensitatea absorbției și a pierderii apei prin transpirație. Raportul dintre aceste două procese poartă denumirea de bilanț de apă.

Stabilirea bilanțului de apă se face prin măsurarea cantității de apă absorbită de rădăcini și a celei pierdute de frunzele plantei într-un

interval de timp determinat. Pentru determinare ne folosim de un potometru Vesque (fig. 51), în care, după ce l-am umplut cu apă, se introduc rădăcinile plantei de cercetat, respectînd indicaţiile menţionate la experienţa nr. 59. După montarea experienţei se şterge bine potometrul, pentru a înlătura apa care eventual s-a prelins pe pereţii lui. Se toarnă apoi peste apa care se găseşte în pîlnia potometrului puţin ulei, pentru a împiedica evaporarea ei, se aduce nivelul apei din tubul gradat la diviziunea zero şi se cîntăreşte potometrul. După o oră se repetă cîntărirea şi se citeşte pe tubul gradat cu cîţi mililitri s-a deplasat nivelul apei. Diferenţa dintre cele două cîntăriri ne dă cantitatea de apă pierdută de plantă prin transpiraţie şi se exprimă în grame, iar volumul de apă indicat de deplasarea meniscului în tubul gradat reprezintă cantitatea pe care a absorbit-o. Considerînd că greutatea unui volum de 1 ml de apă este egală cu 1 g, se calculează raportul dintre apa absorbită şi cea pierdută prin transpiraţie, care în acest caz va fi aproximativ egal cu 1.

Dacă se repetă experienţa punînd în locul apei din potometru o soluţie 0,3 mol de zaharoză (reactivul 73 *e*), se va obţine un bilanţ de apă mai mic decît unitatea, deoarece soluţia de zaharoză va frîna absorbţia apei din ea şi planta va pierde prin transpiraţie o cantitate mai mare de apă decît cea absorbită. După un interval de timp se va putea observa că frunzele plantei încep să-şi piardă turgescenţa. Dacă în acest moment se înlocuieşte soluţia de zaharoză din potometru cu apă şi se repetă determinarea, bilanţul de apă va fi mai mare decît 1, deoarece la început absorbţia va depăşi transpiraţia. Treptat însă, raportul dintre intensitatea acestor procese se va apropia de unitate.

Experienţa nr. 76

DETERMINAREA REZISTENŢEI PLANTELOR LA SECETĂ PRIN METODA VEŞTEJIRII (METODA LUI I. I. TUMANOV)

În principiu, metoda constă în cultivarea plantelor de cercetat în ghivece mari şi în întreruperea udării lor în anumite intervale de timp, după care se reia udarea, urmărindu-se revenirea lor şi recolta obţinută.

Pentru experienţă se iau un număr de 24 de ghivece pentru fiecare specie sau soi a cărui rezistenţă la secetă urmează să fie stabilită. Ghivecele alese trebuie să fie mari, cu fundul larg şi fără orificiu sau cu orificiul astupat. Ele trebuie să aibă pe cît posibil o greutate apropiată. Se vopsesc pe dinăuntru cu lac negru pentru a le face impermeabile, iar pe dinafară cu vopsea albă şi după aceea se numerotează. Se ia apoi cel mai greu ghiveci şi, după ce se aşază pe cîntar, se pun în el un tub de sticlă şi o cantitate nu prea mare de pietriş bine spălat, pînă i se rotunjeşte greutatea. Tubul de sticlă trebuie să aibă un diametru de 0,8—1 cm şi o lungime suficientă pentru ca în poziţie verticală să depăşească marginea superioară a ghiveciului cu 3—4 cm. După aceea,

Scanned with OKEN Scanner

se aduc și ghivecele celelalte la greutatea primului, adăugînd în fiecare cîte un tub de sticlă și cantitatea corespunzătoare de pietriș. După aducerea ghivecelor la aceeași greutate se adună pietricelele din ele într-o grămăjoară așezată într-o parte a ghivecelor, în așa fel ca să nu acopere mai mult de jumătate din fundul acestora. Se acoperă apoi pietricelele cu o bucată de tifon sau cu o hîrtie foarte densă, pentru a împiedica pătrunderea pămîntului în spațiile dintre ele. Se face apoi în acest strat separator o gaură prin care se introduce tubul de sticlă în poziție verticală, pînă la mijlocul grămăjoarei de pietriș (fig. 68). Se umplu apoi ghivecele punînd în fiecare aceeași cantitate de pămînt, de pildă 5 kg. Pămîntul necesar se ia din cîmp. Pentru aceasta se îndepărtează stratul superficial pe o adîncime de 4—5 cm și se ia stratul următor pînă la o adîncime de 30—40 cm. Pămîntul luat se lasă să se usuce și se cerne apoi printr-o sită de 1—3 mm. Înainte de umplerea ghivecelor se ia o probă medie din pămîntul pregătit și i se determină umiditatea și capacitatea maximă pentru apă (v. experiențele nr. 53 și 55). Cunoscînd umiditatea pămîntului și capacitatea sa maximă pentru apă, se calculează cantitatea de apă care trebuie să fie adăugată în fiecare ghiveci, pentru a menține umiditatea pămîntului din el la o valoare egală cu 60% din capacitatea maximă pentru apă.

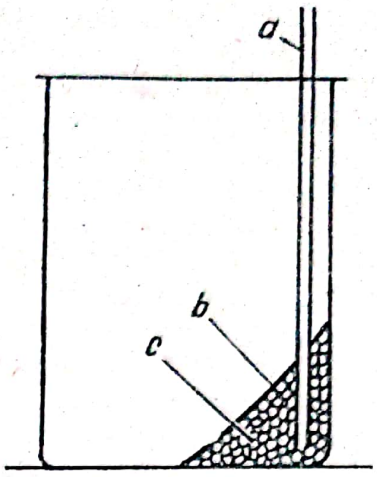


Fig. 68. Așezarea pietrișului și a tubului de sticlă în ghivece:
a — tubul de sticlă; *b* — hîrtie densă; *c* — pietriș (după Skazkin).

Calculul se face în felul următor: dacă, de pildă, umiditatea pămîntului este de 15%, iar capacitatea maximă pentru apă de 50%, aceasta înseamnă că în fiecare 100 g de pămînt se găsesc 15 g de apă, deci în 1 kg de pămînt se vor găsi 150 g de apă, iar în 5 kg se va găsi o cantitate de 5×150, adică 750 g de apă. Considerînd capacitatea maximă (50 g apă la %) a pămîntului ca fiind egală cu 100%, atunci 60% din capacitatea maximă va fi $\frac{50 \times 60}{100} = 30\%$, ceea ce înseamnă că solul va trebui să conțină o cantitate de 30 g de apă la fiecare 100 g din greutatea lui uscată. Deci la 1 kg de sol trebuie să se găsească 300 g de apă, iar la 4,25 kg* o cantitate de $4{,}25 \times 300$ g, adică 1 275 g de apă. Întrucît solul din ghiveci conține deja 750 g de apă, în fiecare ghiveci va trebui să adăugăm o cantitate de apă egală cu 1 275—750, adică 525 g de apă. Deci se adaugă în fiecare ghiveci 0,525 kg de apă pentru a ridica umiditatea lui la 60% din capacitatea maximă. Pentru aceasta se așază ghivecele pe cîntar și se toarnă cu ajutorul unei pîlnii apă prin tubul de sticlă pînă cînd greutatea ghivecelor cu pămînt va crește cu 0,525 kg. Se notează greutatea ghiveciului în acest moment (greutatea de udare).

După aducerea ghivecelor la greutatea de udare, care corespunde cu o umiditate a pămîntului din ele egală cu 60% din capacitatea

* În ghivece se găsesc 4,25 kg sol uscat (5 kg sol — 0,75 kg apă).

maximă, se seamănă în ele cariopse de grîu, orz sau ovăz, după ce au fost lăsate în prealabil în apă ca să se îmbibe. Cariopsele se seamănă la distanţe egale şi la aceeaşi adîncime. După semănat, se cîntăresc ghivecele în fiecare zi şi li se adaugă apă prin tub pînă la greutatea de udare. Tubul serveşte şi pentru pătrunderea aerului în pămîntul din ghiveci. Din cînd în cînd, o parte din apa adăugată se toarnă direct peste suprafaţa pămîntului din ghivece. Cînd răsar plantele, ele se răresc, lăsînd în fiecare ghiveci cîte 10 plantule de aceeaşi mărime, dintre cele care au răsărit în acelaşi timp.

După răsărire, cele 24 de ghivece, necesare pentru o specie sau soi de plantă, se împart în 6 loturi de cîte 4 ghivece şi experienţa se desfăşoară în modul următor:

a) Plantele din primul lot se menţin la o umiditate a solului egală cu 60% din capacitatea maximă în tot cursul perioadei de vegetaţie.

b) Plantele din lotul al II-lea nu se udă de la răsărirea lor pînă la apariţia celei de-a treia frunze, după care se reia zilnic udarea în mod normal.

c) Plantele din lotul al III-lea se ţin neudate în perioada de la apariţia celei de-a treia frunze pînă la apariţia frunzei a şasea şi apoi udarea se reia în mod normal.

d) Plantele din lotul al IV-lea se ţin neudate în perioada cuprinsă între apariţia frunzei a şasea şi înflorire, după care se reia udarea.

e) Cele din lotul al V-lea se ţin neudate în perioada de la înflorire şi pînă la coacerea seminţelor în faza de lapte, după care udarea se reia în mod normal.

f) Plantele din lotul al VI-lea se ţin neudate în perioada de la coacerea seminţelor în faza de lapte pînă la maturitatea completă.

În timpul desfăşurării experienţei, plantele se ţin în aer liber, cu excepţia zilelor ploioase sau ceţoase, cînd se introduc în seră. În decursul perioadei de vegetaţie se măsoară la fiecare decadă înălţimea plantelor şi se fac observaţii asupra stării generale a acestora. Este recomandabil ca experienţa să se facă cu cel puţin două soiuri, dintre care unul să fie rezistent la secetă. La sfîrşitul experienţei se fac o serie de măsurători la sistemul lor radicular, la partea aeriană şi se cîntăreşte recolta obţinută. Rezultatele se trec în tabelul 2.

Tabelul 2

Date asupra rezistenţei plantelor la secetă

Specia şi soiul	Varianta	Repetiţii	Înălţimea plantelor cm	Sistemul radicular			Partea aeriană		Seminţe	
				Volumul în cm	Greutatea proaspătă g	Greutatea uscată g	Greutatea proaspătă g	Greutatea uscată g	Greutatea a 100 boabe g	Recolta de la 10 plante g

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

1. Anikiev, V. V., Miller, M. S, Obuhova, G. A., Skazkin, F. D., *Letnie prakticeskie zaniatia po fiziologhii rastenii*, Moskva, Gosudarstvennoe Ucebno-Pedagoghiceskoe Izdatelstvo Ministerstva Prosvescenia R.S.F.S.R., 1960.
2. Bonnier, Gaston, *Anatomie et Physiologie végétales*, Paris, Paul Dupont, 1893.
3. Bonnier, Gaston, Du Sablon, Leclerc, *Cours de botanique — dixième partie*, Physiologie, Paris, 1931.
4. Brugovitzky, Edit, *Növényélettani vizsgálatok*, Bukarest, Mezőgazdasági és Erdészeti Állami könyvkiadó, 1957.
5. Chirilei, H., Puşcas, M., Bărbat, I., *Manual de fiziologia plantelor pentru institutele agronomice şi agrosilvice*, Litografia şi tipografia învăţământului, 1957.
6. Chiriţă, D. C., *Pedologie generală*, Bucureşti, Editura agro-silvică de stat, 1955.
7. Dumanschi, A. V. *Coloizii*, Editura de stat, 1949.
8. Ermakov, A. I., Arasimovici, V. V., Smirnova-Ikonnikova, M. I., Murri, I. K., *Metodî biohimiceskovo issledovaniia rastenii*, Moskva—Leningrad, Gosudarstvennoe Izdatelstvo Selskohoziaistvennoi literaturî, 1952.
9. Gusev, N. A., *Nekotorie metodi issledovania vodnovo rejima rastenii*, Leningrad, 1960.
10. Ivanov, N. I., *Metodi fiziologhii i biohimii rastenii*, Moskva—Leningrad, Oghiz-Selhozghiz, 1946.
11. Kostytschew, S., *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, Band II, Berlin, Verlag von Julius Springer, 1931.
12. Krafts, A., Karrier, H., Stoking, K., *Voda i eio znacenie v jizni rastenii*, Moskva, Izdatelstvo Inostrannoi literaturî, 1951.
13. Maximov, N. A., *Fiziologia plantelor*, Editura de stat pentru literatură ştiinţifică, 1951.
14. Moisescu, N., *Fiziologia vegetală experimentală*, Bucureşti, Editura „Minerva", 1907.
15. Peterburgski, A. V., *Manual de lucrări practice la chimia agricolă*, Bucureşti, Editura agro-silvică de stat, 1954.
16. Pop, E., Péterfi, Şt., Sălăgeanu, N., Chirilei, H., *Manual de fiziologia plantelor*, vol. II, Bucureşti, Editura de stat didactică şi pedagogică, 1960.
17. Popov, Iord., Doceva-Popova, P., Gheorghiev, G. Hr., Guscerov, G., *Prakticesko rukovodstvo po fiziologhia na rasteniata*, Sofia, 1957.
18. Sălăgeanu, N., Taşcă, C., *Despre intensitatea transpiraţiei în timpul zilei şi în decursul perioadei de vegetaţie şi despre coeficientul economic al transpiraţiei la unele cereale*, Buletin ştiinţific al Acad. R.P.R., Secţiunea de ştiinţe biologice, agronomice, geologice şi geografice, 1955. Tom VII, nr. 2.
19. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., Krasnoselskaia, T. A., Miller, M. S., Anikiev, V. V., *Praktikum po Fiziologhii rastenii*, Moskva, Sovetskaia Nauka, 1953.
20. Stocker, O., *Über die Messung von Bodensaugkräften und ihren Verhältnis zu den Wurzelsaugkräften*, Zeitschrift für Botanik, Band 23, 1930.
21. Tetiurev, V. A., *Metodica experienţelor la fiziologia plantelor*, Bucureşti, Editura didactică şi pedagogică, 1953.
22. Ursprung, A., *Die Messung der osmotischen Zustandsgrössen pflanzlicher Zellen und Gewebe* (în Abderhalder Emil, *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*, Abt. XI, Teil 4, Hälfte 2), Berlin—Wien, 1939.
23. Vasiliu, A., *Cercetarea solului prin metode fizice*, Timişoara, Tipografia românească, 1944.
24. Zamfirescu, N., *Cercetări asupra absorbţiunii apei prin organele aeriene ale plantelor*, Buletinul Ministerului Agriculturii şi Domeniilor, 1931, vol. III, nr. 5—6

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul III

NUTRIȚIA MINERALĂ A PLANTELOR

de conf. univ. Dr. EMILIA ILIESCU

Plantele au nevoie pentru creșterea și dezvoltarea lor de hrană. Plantele verzi, cele mai răspîndite plante de pe suprafața pămîntului, își iau hrana necesară din mediul înconjurător (sol, apă, aer) sub formă de substanțe anorganice (bioxid de carbon, apă și săruri minerale) cu care în prezența clorofilei și luminii solare sintetizează absolut toate substanțele organice ce alcătuiesc corpul lor, precum și hrana tuturor celorlalte viețuitoare, inclusiv a omului.

A. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A PLANTELOR

1. STUDIUL CENUȘII

În compoziția substanțelor uscate din plantă, cenușa (partea care rămîne după ardere) reprezintă aproximativ 5% sau chiar mai puțin din greutatea plantei.

Cantitatea de cenușă din plantă se poate determina prin calcinare. Se cunosc 2 metode de calcinare: 1) calcinare pe cale uscată și 2) calcinare pe cale umedă (sau mineralizare), cu ajutorul acidului azotic sau cu un amestec de acid azotic și acid sulfuric.

Calcinarea umedă dă rezultate foarte precise, deoarece prin acest procedeu nu se pierd fosforul, sulful și potasiul. Calcinarea uscată este o metodă mai rapidă, simplă și ieftină, recomandată de obicei pentru celelalte elemente minerale. Dacă se lucrează atent și se încălzește cenușa numai pînă la roșu-închis, chiar cu această metodă se pierd cantități inapreciabile de fosfor, sulf și potasiu.

Experiența nr. 77

DETERMINAREA CANTITĂȚII DE CENUȘĂ

Se ia un creuzet de porțelan curat, uscat și cu capac. Se calcinează ½—1 oră la flacăra unui bec de gaz sau într-un cuptor. După răcirea lui în exsicator se cîntărește. Calcinarea și cîntărirea se repetă pînă la stabilirea greutății constante (cînd diferența între ultimele 2 cîntăriri este mai mică de 0,0001 g).

În creuzetul adus la greutate constantă se cîntăresc la balanța analitică 0,5—2 g din țesutul de analizat (substanță uscată).

Creuzetul cu proba de analizat, închis cu capacul, se așază pe un triunghi de calcinare și se încălzește la flacăra albăstruie a unui bec de gaz. Flacăra nu trebuie să atingă fundul creuzetului, ci trebuie să

fie la o distanță de 2—3 cm. Calcinarea trebuie făcută lent, pentru a se evita distilarea uscată violentă (în care caz, este posibilă împrăștierea de particule mici de substanță, împreună cu gazele ce se degajă). Ridicarea temperaturii se admite numai după ce a încetat degajarea produșilor de distilare uscată (care se depun ca un strat negru pe suprafața interioară a capacului). Simultan cu ridicarea temperaturii se deschide capacul pe jumătate, iar creuzetul se așază înclinat pentru a înlesni accesul aerului.

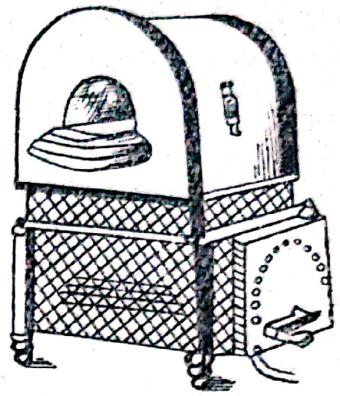


Fig. 69. Cuptor de calcinare electric (după Peterburgski).

Dacă se calcinează chiar de la început la temperatură ridicată, se poate întîmpla ca în creuzet să rămînă porțiuni de cărbune nears, ceea ce duce la pierderi de fosfor. Acesta poate fi redus de cărbune pînă la fosfor elementar, care se volatilizează. La temperatură ridicată se reduc și sulfații, iar sulful se poate volatiliza; de asemenea, se descompun și se volatilizează și sărurile de potasiu.

După obținerea cenușii, trecem creuzetul în cuptorul electric (sau de gaz) (fig. 69) pentru calcinarea completă, încălzind numai pînă la roșu-închis.

După calcinare răcim creuzetul în exsicator și determinăm greutatea cenușii cîntărind creuzetul cu cenușă la balanța analitică. Prin calcinare repetată de scurtă durată (15 minute), răcire în exsicator și cîntărire, se ajunge la greutate constantă, din care, dacă se scade greutatea creuzetului, se află greutatea cenușii.

Culoarea cenușii este de obicei aproape albă. Cenușa roșie-brună indică prezența oxizilor de fier, iar cea verzuie, prezența manganului.

Calcularea procentului de cenușă se face cu ajutorul formulei:

$$x = \frac{b \times 100}{n},$$

în care:

n este greutatea probei luată pentru calcinare, în g;
b — greutatea cenușii brute, în g.

Experiența nr. 78

ALCALINITATEA CENUȘII

Alcalinitatea cenușii este dată de *alcalii* și *carbonații metalelor alcaline* și de *oxizii metalelor* din cenușă.

Se poate folosi orice fel de cenușă, de exemplu cenușa de mere, cartofi, frunze de mușcată, de begonie, cariopse de grîu etc.

Modul de lucru. Într-un Erlenmeyer de 250 ml se cîntăresc cu precizie la balanța analitică 0,5 g de cenușă de plante. Adăugăm peste ea (dintr-o biuretă) 100 ml HCl 0,1 *n* (reactivul 4 *b*) și o picătură de H_2O_2 30%, încălzind timp de 10 minute pe o baie de apă care fierbe. După răcire se filtrează prin hîrtie de filtru spălînd cu apă distilată de cîteva ori atît balonul cît și hîrtia de filtru. În filtrat se adaugă 1—2 picături de indicator, metil oranj 0,1% (care în mediu acid dă o culoare roșie), și se titrează cu NaOH 0,1 *n* (reactivul 42) excesul de acid pînă la apariția culorii portocalii. Se repetă determinarea de 2—3 ori și se face media valorilor obținute. De exemplu, dacă la titrarea excesului de HCl s-au folosit în medie 25,50 ml NaOH 0,1 *n*, și factorul soluției de NaOH 0,1 *n* este 1,0407, iar factorul soluției de HCl este 1,1240, alcalinitatea celor 0,5 g de cenușă va fi egală cu:

$$(100 \times 1{,}1240) - (25{,}50 \times 1{,}0407) = 112{,}40 - 26{,}54 = 85{,}86 \text{ ml HCl } 0{,}1\ n.$$

Alcalinitatea raportată la 1 g de cenușă va fi:

$$85{,}86 \cdot 2 = 171{,}72 \text{ ml HCl } 0{,}1\ n \text{ sau } 17{,}17 \text{ ml HCl } 1\ n$$

Rezultatul se exprimă în mililitri de acid la 1 g de cenușă. Reacția are loc în cazul carbonatului de calciu astfel:

$$CaCO_3 + CaO + 4\,HCl = 2\,CaCl_2 + CO_2 + 2\,H_2O$$

Excesul de HCl se titrează cu NaOH:

$$HCl + NaOH = NaCl + H_2O$$

a. Punerea în evidență a elementelor solubile în apă

Experiențele se efectuează cu cantități mici de cenușă. Proporția cenușă-apă este de 3 g de cenușă la 100 ml de apă distilată. Extractul se filtrează pe hîrtie de filtru. Dacă filtratul este tulbure, se repetă filtrarea pe același filtru, care are porii oarecum astupați. În acest fel, filtrarea se face și mai bine, obținîndu-se un filtrat limpede. În filtratul apos căutăm potasiul, sodiul și clorul.

Experiența nr. 79

POTASIUL

Se preferă să se lucreze cu cenușă de *Chenopodium* (spanac), cu cenușă de *Beta vulgaris* (sfeclă) ect., bogate în K. Din extractul apos punem o picătură pe lamă și se evaporă la flacără pînă la uscare (pentru concentrarea soluției). După răcire, adăugăm o picătură de hexanitrocupriat de sodiu și plumb — $Na_2Pb[Cu(NO_2)_6]$ — (reactivul 36).

Scanned with OKEN Scanner

în prezența căruia apar cristale caracteristice (fig. 70), de un verde-închis, de tripelnitrit $K_2Pb[Cu(NO_2)_6]$.

Hexanitrocupriatul de Na și Pb este reactivul cel mai indicat pentru potasiu.

Potasiul se mai poate pune în evidență și pe cale pirognostică. Pentru aceasta se trece prin flacăra becului o ansă de platină (sau vîrful unui creion) înmuiată în prealabil în extract și se privește printr-o sticlă de cobalt. Sticla de cobalt absoarbe razele galbene ale sodiului, ceea ce permite observarea culorii violet-deschis, caracteristică pentru potasiu.

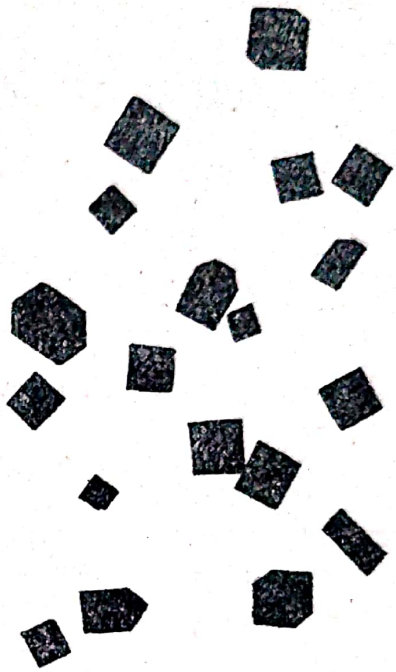


Fig. 70. Cristale de tripelnitrit (după Brugovitzky).

Experiența nr. 80

SODIUL

Colorează flacăra incoloră a becului Bunsen în galben.

Experiența nr. 81

CLORUL

Se poate lucra cu orice fel de cenușă, de preferință însă cenușă de *Nicotiana tabacum* (tutun), de *Apium graveolens* (țelină), bogate în cloruri.

Se ia într-o eprubetă 1 ml de soluție apoasă, care se acidifiază cu 3—4 picături de HNO_3 5% (reactivul 3 *b*) și apoi se adaugă cîteva picături dintr-o soluție diluată de $AgNO_3$ 3%. În prezența clorului apare un precipitat alb brînzos de clorură de argint, după reacția:

$$KCl + AgNO_3 = AgCl + KNO_3$$

b. Punerea în evidență a elementelor solubile în acizi și a sulfaților și carbonaților

Se introduc în două baloane Erlenmeyer cîte 3 g de cenușă, se toarnă într-unul din ele 100 ml HCl 5% (reactivul 4 *g*), iar în celălalt aceeași cantitate de HNO_3 5% (reactivul 3 *b*). Se încălzesc la flacăra mică timp de 10 minute, după care se filtrează printr-un filtru cutat. În extractul clorhidric se caută fierul, aluminiul, calciul, magneziul, carbonații și sulfații, iar în extractul azotic — manganul și fosfații.

Experiența nr. 82

FIERUL

Se găsește în cenușa plantelor de spanac, roșii etc. și se prezintă sub formă de Fe_2O_3, care prin tratare cu HCl trece în $FeCl_3$.

1) Pentru punerea lui în evidență se iau într-o eprubetă 1—2 ml de extract, peste care se pun cîteva picături de ferocianură de K 10%. Se obține un precipitat de culoare albastră caracteristică, de ferocianură ferică (albastrul de Berlin):

$$4FeCl_3 + \underset{\text{ferocianura de potasiu}}{3K_4[Fe(CN)_6]} = \underset{\substack{\text{ferocianura ferică} \\ \text{(albastru de Berlin)}}}{Fe_4[Fe(CN)_6]_3} + 12KCl$$

Dacă în extract este foarte puțin fier, nu se formează precipitatul albastru, ci apare o culoare albastră-verzuie sau chiar verde. Concentrația limită pentru obținerea culorii este de 1 : 1 000 000.

2) Dacă se amestecă extractul cu sulfocianură de potasiu (KSCN) sau de amoniu (NH_4SCN), se obține o colorație roșie, ca a sîngelui, de sulfocianură de fier, fără formarea vreunui precipitat.

$$FeCl_3 + 3KSCN = Fe(SCN)_3 + 3KCl$$

Dacă soluția conține puțin fier apare o colorație de un roșu pal.

Experiența nr. 83

ALUMINIUL

Din extractul clorhidric se precipită cationii care jenează reacția prin adăugare de NaOH 10% și încălzire. Precipitatul format se filtrează, iar filtratul care conține aluminatul de sodiu ($NaAlO_2$) se acidulează cu acid acetic 10% (reactivul 2 *c*). Se adaugă apoi o picătură de soluție de morină (reactivul 48). În prezența aluminiului, conținutul eprubetei devine fluorescent, de culoare verde. Fluorescența se datorește sării de aluminiu a morinei: $(Al[CN_5H_9O_7]_3)$.

Experiența nr. 84

CALCIUL

Se găsește în cantitate mare în cenușa de *Quercus ceris* (stejar). Se ia o picătură de soluție clorhidrică de cenușă pe lamă și se pune alături o picătură de H_2SO_4 10% (reactivul 8 *b*). La locul de contact apar cristale aciculare de gips ($CaSO_4$, fig. 71):

$$CaCl_2 + H_2SO_4 = CaSO_4 + 2HCl$$

Soluția de $CaCl_2$ sau extractul acid colorează flacăra în roșu-cărămiziu.

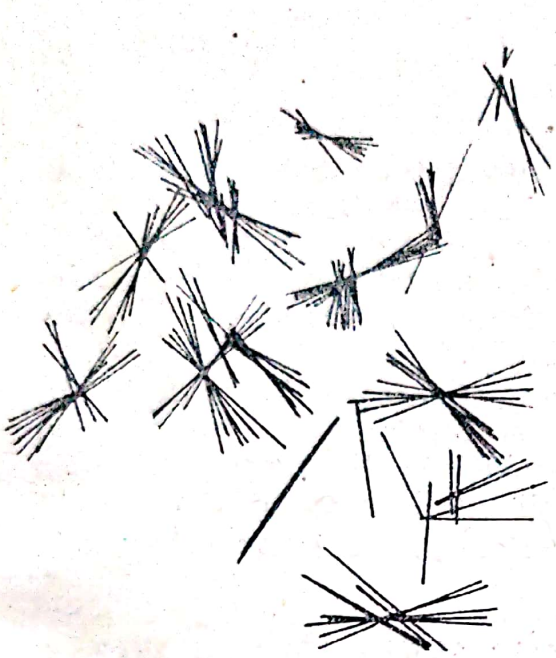


Fig. 71. Cristale aciculare de gips (după Brugovitzky).

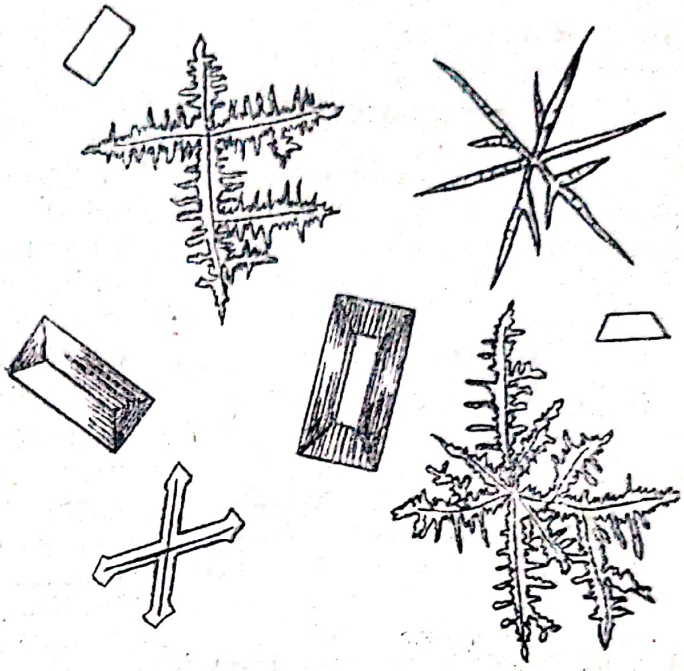


Fig. 72. Cristale de fosfat amoniaco-magnezian (după Brugovitzky).

Experiența nr. 85

MAGNEZIUL

Se iau într-o eprubetă 5—10 ml de extract clorhidric. Adăugăm NH_4Cl 10% în exces, pentru a se împiedica precipitarea magneziului, și apoi hidroxid de amoniu concentrat, pînă la reacție alcalină (să se simtă mirosul de amoniac). Încălzim la 60°C. Se înlătură ionii care maschează reacția, cu $(NH_4)_2CO_3$ 10%. Încălzim la fierbere, spre a obține un precipitat cristalin de $CaCO_3$ și $FeCO_3$. Se filtrează prin filtru cutat, iar în filtrat se pune în evidență magneziul cu Na_2HPO_4 12%. Acesta provoacă formarea de cristale de fosfat amoniaco-magnezian, care la microscop se prezintă sub formă de steluțe sau aripioare (fig. 72). Grăbim formarea cristalelor frecînd pereții cu o baghetă.

Cristalele de fosfat amoniaco-magnezian se formează conform reacției:

$$MgCl_2 + Na_2HPO_4 + NH_4OH = \underset{\text{fosfat amoniaco-magnezian}}{MgNH_4PO_4} + 2NaCl + H_2O$$

Experiența nr. 86

SULFAȚII

Se iau o picătură de extract clorhidric și una de clorură de bariu 5%. La locul de unire se obține un precipitat de sulfat de bariu:

$$K_2SO_4 + BaCl_2 = BaSO_4 + 2KCl$$

Reacția se poate efectua și în eprubetă cu cîțiva mililitri de soluție.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 87

CARBONAŢII

Se pune o cantitate mică de cenuşă într-un balon Erlenmeyer şi după ce se toarnă peste ea acid clorhidric 10% (reactivul 4 *b*), se astupă repede cu un dop de cauciuc prin care trece un tub de sticlă îndoit. Capătul tubului de sticlă se introduce într-o eprubetă cu hidroxid de bariu (fig. 73).

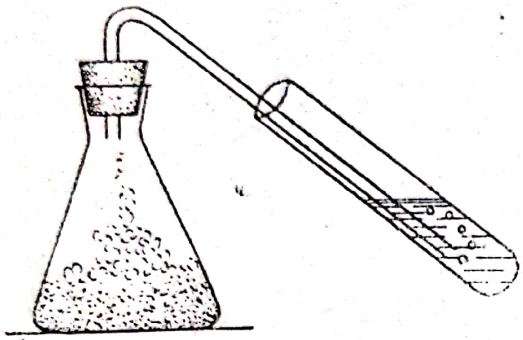


Fig. 73. Instalaţia pentru punerea în evidenţă a carbonaţilor din cenuşă (după Brugovitzky).

Prin adăugarea acidului clorhidric, în balon se produce o efervescenţă în urma punerii în libertate a CO_2 din carbonaţii aflaţi în cenuşă.

Reacţia care are loc este următoarea:

$$K_2CO_3 + 2HCl = H_2CO_3 + 2KCl$$

$$H_2CO_3 \rightarrow H_2O + CO_2$$

Bioxidul de carbon rezultat va barbota în soluţia diluată de $Ba(OH)_2$ din eprubetă, în care se va observa o tulbureală datorită formării carbonatului de bariu, după reacţia:

$$CO_2 + Ba(OH)_2 = BaCO_3 + H_2O$$

Dacă în soluţia de $Ba(OH)_2$ se barbotează o cantitate prea mare de CO_2, precipitatul format se va dizolva datorită bicarbonatului de bariu:

$$BaCO_3 + H_2O + CO_2 \rightleftarrows Ba(HCO_3)_2$$

Prin încălzire, bioxidul de carbon se degajă, şi precipitatul de $BaCO_3$ va reapărea.

Experienţa nr. 88

MANGANUL

Luăm extract azotic de cenuşă de conifere sau porumb, adăugăm peste el un vîrf de cuţit de peroxid de plumb sau de miniu. Se adaugă HNO_3 în exces şi se fierbe. Lichidul se colorează în violet purpuriu, datorită acidului permanganic, format după reacţia:

$$MnO + 2HNO_3 = Mn(NO_3)_2 + H_2O$$

$$2Mn(NO_3)_2 + 5PbO_2 + 6HNO_3 = \underset{\text{acid permanganic}}{2HMnO_4} + 5Pb(NO_3)_2 + 2H_2O$$

Experiența nr. 89

FOSFORUL

Se ia o picătură de extract azotic pe o lamă, alături de care se pune o picătură de molibdat de amoniu 1%, amestecată cu o picătură de HNO_3 concentrat. Unim cele 2 picături cu o baghetă foarte subțire. La linia de unire apar la o ușoară încălzire (de 50°C) cristale galbene, romboedrice de fosfomolibdat de amoniu (fig. 74), conform reacției:

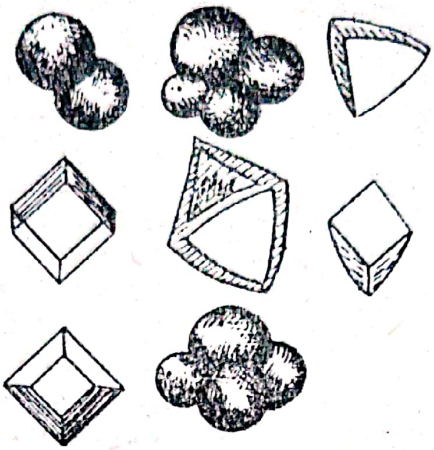


Fig. 74. Cristale de fosfomolibdat de amoniu (după Skazkin).

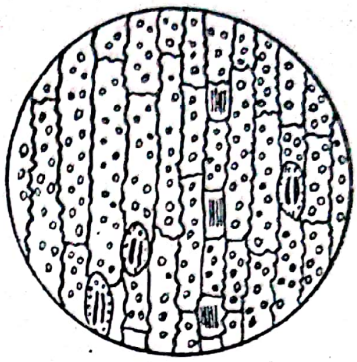


Fig. 75. Spodogramă (după I. Ciobanu).

$$K_3PO_4 + 12(NH_4)_2MoO_4 + 24HNO_3 = (NH_4)_3PO_412MoO_3 + 21NH_4NO_3 + 12H_2O.$$

Reacția se poate face și în eprubetă cu cîțiva mililitri de soluție.

c. Punerea în evidență a elementelor insolubile

Experiența nr. 90

SILICIUL

Sub formă de SiO_2 incrustează puternic membranele celulare la graminee (cereale, trestie), la *Equisetum* (coada calului), diatomee etc.

Cantitatea mare de SiO_2 din membrane face ca prin arderea organelor să se păstreze forma și structura lor. Imaginea unor asemenea organe la microscop se numește „spodogramă" și poate servi la identificarea organelor bogate în siliciu (fig. 75).

2. PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A UNOR ELEMENTE MINERALE DIN ȚESUTURILE VEGETALE

Experiența nr. 91

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A FIERULUI PE CALE HISTOCHIMICĂ

Reacția albastrului de Berlin este cea mai convenabilă, deoarece precipitatul albastru apare acolo unde este localizat fierul.

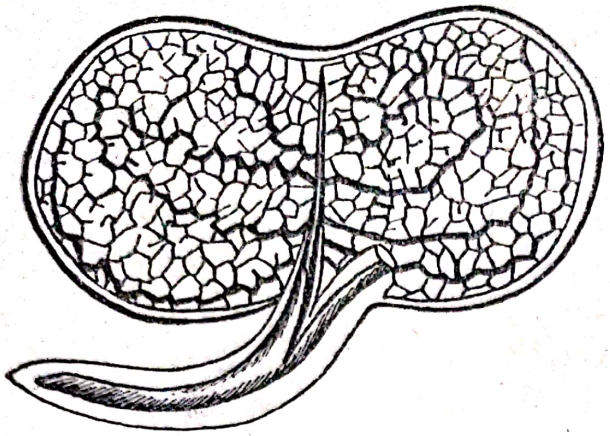


Fig. 76. Localizarea fierului în cotiledoanele de *Sinapis alba* (după Molisch).

Reacţia cu KSCN nu este indicată, deoarece soluţia roşie de $Fe(SCN)_3$ care apare difuzează în ţesut şi, în acest fel, nu arată localizarea fierului.

Pentru punerea în evidenţă a fierului se folosesc seminţe de muştar îmbibate 3—5 ore în apă. Se scot cotiledoanele cu ajutorul unei pense cu vîrful de os, spre a nu veni în contact cu fierul (eventual ne putem folosi de unghii) şi se pun într-o cutie mică Petri, turnînd peste ele soluţie de $K_4[Fe(CN)_6]$ 5%. După 2—4 ore se trec cotiledoanele în capacul cutiei Petri, turnîndu-se peste ele HCl 10% (reactivul 4 *f*). După 10—15 minute se poate vedea chiar cu ochii liberi reţeaua albastră de nervuri a cotiledoanelor (fig. 76). Se scot cotiledoanele din HCl cu o pensă cu vîrf de os sau cu o spatulă de sticlă, se spală cu apă distilată, după care se pun într-o soluţie de cloral hidrat 5% pentru clarificarea lor şi apoi se examinează la un binocular, aşezîndu-le pe o lamă de sticlă.

Pentru experienţă se aleg cotiledoanele cele mai subţiri. Nervurile se albăstresc datorită fierului prezent în ele şi care s-a precipitat (albastru de Berlin).

Reacţia nu reuşeşte cu seminţe germinate, care au cotiledoanele ieşite, pentru că în timpul germinării fierul intră în diferiţi compuşi organici.

Experienţa nr. 92

ALUMINIUL

Se pun pe o lamă secţiuni făcute prin ramuri sporofite de *Equisetum arvense* şi se tratează cu un amestec de soluţie de clorură de cesiu 33% şi H_2SO_4 39% (reactivul 8 *e*), luate în părţi egale.

În urma acestui amestec apar cristale incolore, octoedrice de aluminat de cesiu: $(CsSO_4 \cdot Al_2(SO_4)_3 + 22H_2O)$, care se văd uşor la microscop.

Experienţa nr. 93

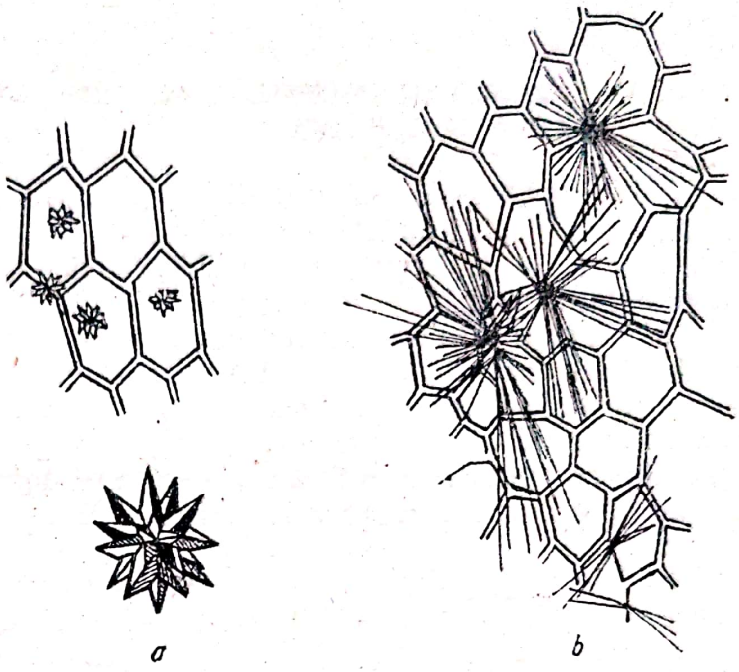
CALCIUL

Se fac secţiuni transversale prin peţiolul unei frunze de *Begonia sempervirens*, *Begonia rex* sau *Primula sinensis* şi se observă la microscop într-o picătură de apă sub lamelă. În celulele parenchimatoase se observă cristale de oxalat de calciu (fig. 77, *a*). Dacă se adaugă

sub lamelă 1—2 picături de H_2SO_4 70% (reactivul 8 *d*), sugînd apa de partea cealaltă a lamelei cu ajutorul unei hîrtii de filtru, se va putea observa că aceste cristale se transformă în cristale de gips ($CaSO_4$) de formă aciculară (fig. 77, *b*). Reacția care are loc este următoarea:

$$\begin{matrix}COO\\|\\COO\end{matrix}\!\!>Ca + H_2SO_4 =$$

$$= CaSO_4 + \begin{matrix}COOH\\|\\COOH\end{matrix}$$



a *b*

Fig. 77. Punerea în evidență a calciului :
a — cristale de oxalat de calciu ; *b* — cristale de sulfat de calciu (după Brugovitzky).

Experiența nr. 94

CLORUL

Se găsește în cantitate mare în *Apium graveolens* (țelină) și mai ales în algele marine, în unele ferigi și plante halofite. Se tratează secțiunile proaspete cu o soluție de $AgNO_3$ 3%. Se formează un precipitat alb, amorf de clorură de argint (AgCl), care prin încălzire devine mai dens, iar la lumină se înnegrește, rezultînd argint metalic.

Experiența nr. 95

IODUL ORGANIC

Se ia un fragment de tal uscat de *Laminaria* și se introduce într-o sticlă de ceas în care se găsesc 5 ml de clei de amidon 1% (reactivul 20 *b*) și un număr egal de picături dintr-o soluție de KNO_2 20% și de HCl 5% (reactivul 4 *g*). Iodul din țesutul talului este pus în libertate și colorează cleiul de amidon în albastru. Aceeași probă se poate face pe lamă cu o secțiune, sub microscop.

Experienţa nr. 96

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A AZOTULUI NITRIC, NITROS, AMONIACAL ŞI AMIDIC

1) *Azotul nitric.* Pentru punerea în evidenţă a *azotului nitric* se folosesc tulpini uscate sau proaspete de *Amaranthus* (ştir), *Nicotiana tabacum* (tutun), *Capsicum* (ardei), *Urtica* (urzică), *Tradescantia* etc., bogate în azotaţi.

a) Se taie tulpina sau ramura longitudinal şi apoi se aplică pe ţesut cu bagheta de sticlă o picătură de difenilamină (reactivul 32) sau o picătură de brucină (reactivul 19). În primul caz, se obţine instantaneu o coloraţie albastră, care trece apoi în negru din cauza H_2SO_4 concentrat (din compoziţia reactivului), care carbonizează ţesuturile. Cu brucina se obţine o culoare portocalie, care se înnegreşte repede tot din aceleaşi motive.

b) Din tulpini bogate în azotaţi se poate obţine şi un extract apos concentrat, fierbînd bucăţi de tulpină în apă distilată timp de 10—15 minute. Se ia într-o eprubetă 1 ml de extract, şi cu ajutorul unei pipete se introduce în fundul eprubetei 1 ml H_2SO_4 concentrat, care, fiind greu, rămîne la fund şi ridică deasupra lui extractul cu azotaţi. Adăugînd cu pipeta 1—2 picături de difenilamină sau brucină, obţinem la linia de separaţie dintre H_2SO_4 concentrat şi extract un inel colorat în albastru, respectiv portocaliu, care indică prezenţa nitraţilor.

c) Se aşază pe lamă o secţiune făcută în frunză sau tulpină şi se tratează cu o picătură de difenilamină. Secţiunea se colorează în albastru, mai mult sau mai puţin intens, după cantitatea nitraţilor prezenţi.

În acest fel se poate urmări expeditiv pătrunderea azotatului din îngrăşăminte, precum şi repartizarea lui în diferite organe. Culoarea obţinută se poate compara cu o scară etalon, în prealabil pregătită (după Ţerling). Experienţa arată că organele tinere nu au nitraţi. De aceea, pentru diagnosticul foliar trebuie alese frunze bătrîne sau rădăcini. De asemenea, se constată că în special parenchimul din jurul nervurilor se colorează în albastru, datorită nitraţilor localizaţi aici.

d) Reacţiile cu difenilamină şi brucină se pot face şi cu *suc vegetal* (obţinut prin presarea plantelor), cu condiţia să nu conţină clorofilă (substanţă reductoare în prezenţa căreia nu apare culoarea).

e) Se freacă pereţii interiori ai unei capsule de porţelan cu secţiunea proaspătă a unei ramuri bogate în azotaţi. Apoi se încearcă reacţia de culoare cu difenilamină sau cu brucină cu sucul rămas pe pereţii capsulei.

2) *Azotul nitros.* Se iau într-o eprubetă 3—4 ml de extract apos concentrat, rezultat prin fierberea tulpinilor de *Amaranthus*, şi se toarnă peste el H_2SO_4 concentrat şi o cantitate dublă de iodură de potasiu amidonată (preparată din părţi egale de KI 1% şi clei de amidon 1% — reactivul 20 *b*). Se obţine o coloraţie albastră imediat în cazul unei cantităţi mai mari de azotiţi sau după un interval de timp ($^1/_4$—$^1/_2$ oră) dacă extractul este mai sărac în săruri azotoase.

Au loc următoarele reacții:

$$2\,KNO_2 + H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2\,HNO_2$$

$$2\,KI + H_2SO_4 = K_2SO_4 + 2\,HI$$

$$2HNO_2 + 2\,HI = 2\,NO + 2\,H_2O + I_2,$$ care colorează în albastru amidonul din KI amidonată.

3) *Azotul amoniacal.* O cale expeditivă este metoda Will și Warrentrapp (cu calce sodată).

a) Se încălzește la flacără într-o eprubetă o cantitate mică dintr-un amestec de făină de leguminoase și calce sodată în părți egale. Foarte repede se răspîndește un miros de corn ars. Dacă se așază la gura eprubetei o hîrtie roșie de turnesol umectată cu apă, aceasta se albăstrește, datorită degajării vaporilor de amoniac, iar dacă la gura eprubetei se așază o baghetă înmuiată în HCl concentrat, imediat se produce un fum alb de NH_4Cl (țipirig).

b) Într-un balon Erlenmeyer de 100—200 ml se pun fragmente de rădăcini de sfeclă sau de bulb de ceapă tăiate mărunt și se acoperă cu NaOH sau KOH 10—20%. Se astupă Erlenmeyerul cu un dop de cauciuc, străbătut de un tub de sticlă îndoit de 2 ori în unghi drept și al cărui capăt liber este introdus într-o eprubetă cu apă în care s-au pus 2—3 picături de fenolftaleină (reactivul 33) (indicator). Încălzim conținutul balonului, ținînd flacăra la o oarecare distanță (fig. 78).

Pe măsura degajării amoniacului (pe seama sărurilor de amoniu din celule), fenolftaleina se colorează în roșu mai mult sau mai puțin intens, în funcție de cantitatea de amoniac ce se degajă.

În locul eprubetei cu fenolftaleină se poate pune o eprubetă cu reactiv Nessler diluat cu apă (reactivul 56), după ce în prealabil s-a șters capătul liber al tubului de sticlă. În acest caz se obține un precipitat galben-portocaliu sau chiar cafeniu-închis, în funcție de cantitatea de amoniac degajat.

4) *Azotul amidic.* Asparagina, amida acidului aspartic ($CONH_2 \cdot CH_2 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$), se găsește mai ales în plantule de leguminoase, în curs de creștere. Plantulele etiolate de lupin lungi de circa 10—12 cm conțin 20% asparagină din greutatea lor uscată.

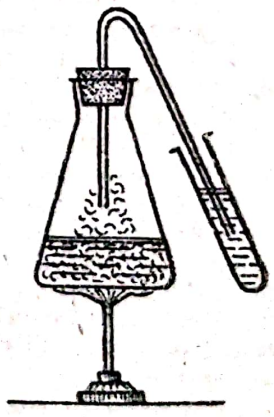


Fig. 78. Dispozitiv pentru punerea în evidență a azotului amoniacal.

Asparagina se pune ușor în evidență în felul următor:

a) Pe cale histochimică, ținînd secțiuni nu prea subțiri, făcute în axa hipocotilă de lupin etiolat, în alcool absolut sau în glicerină pură (într-o sticlă de ceas). După un timp oarecare apar în celule cristale caracteristice, rombice, incolore, de asparagină. Dacă în celule este o cantitate mică de asparagină, se pun secțiunile pe lamă, se acoperă cu alcool absolut și

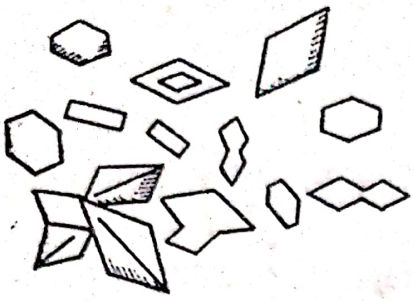


Fig. 79. Cristale de asparagină (după Molisch).

cu lamela. Se aşteaptă pînă se usucă şi se observă la microscop.

b) Strivim în mojar 60—70 g de hipocotile etiolate de lupin. Trecem terciul obţinut printr-un tifon, presîndu-l cu degetele, iar sucul obţinut îl încălzim pe baie de apă într-o eprubetă, pentru îndepărtarea substanţelor proteice (care prin încălzire se coagulează).

Prin filtrări repetate îndepărtăm substanţele proteice.

Peste 10 ml de filtrat, turnăm 50 ml de alcool absolut, agitînd bine. Lăsăm eprubeta în repaus. În filtrat apar, după un interval oarecare de timp, cristale caracteristice, romboedrice, incolore de asparagină, care se depun pe fundul eprubetei.

Cristalele de asparagină au un unghi de 129°18′, spre deosebire de cele de salpetru ($NaNO_3$), cu care se aseamănă şi care au un unghi de 99°44′ (fig. 79).

B. ANALIZA SOLULUI

Pregătirea extractului de sol. Se foloseşte de obicei extract apos de sol, în care trec compuşii uşor solubili şi în special sărurile minerale.

Deoarece în solul uscat la aer se produc schimbări importante în compoziţia substanţelor solubile în apă, se recomandă ca pentru prepararea extractelor apoase din sol să se folosească probe de sol proaspăt, ridicate direct din cîmp.

Apa distilată folosită la pregătirea extractului din sol nu trebuie să conţină CO_2. De aceea, se foloseşte apă distilată fiartă în prealabil şi răcită.

Pentru pregătirea extractului apos se foloseşte mai frecvent raportul de 1 : 5 între cantitatea de sol şi apă. În acest scop se iau 100 g de sol cîntărit la balanţa tehnică într-un balon de 750 ml, peste care se toarnă 500 ml de apă distilată. Se acoperă balonul cu un dop, se agită timp de 3 minute, iar suspensia obţinută se filtrează prin filtru cantitativ, cutat.

Pentru a evita ruperea hîrtiei de filtru se toarnă suspensia, folosind o baghetă de sticlă, cu ajutorul căreia se dirijează căderea lichidului pe hîrtia de filtru. Pentru a obţine un filtrat cît mai limpede, este necesar ca de la începutul filtrării să se treacă pe hîrtia de filtru cît mai mult sol, adică trebuie să se agite bine conţinutul balonului înainte de a turna suspensia pe hîrtia de filtru. Totuşi, şi în acest caz se poate întîmpla ca primele porţiuni de filtrat să fie tulburi. De aceea, primele porţiuni de filtrat se toarnă din nou în pîlnie la refiltrat, pentru ca la analiză să se folosească numai filtrat complet limpede.

Substanţele dizolvate în extract se modifică foarte repede, datorită proceselor microbiologice. Pentru aceasta se experimentează cu extract proaspăt, iar în cazul cînd analizele se efectuează după o zi, se adaugă în balonul cu filtrat cîteva picături de toluol, se închide cu un dop şi se agită bine.

Extractul apos de sol, astfel pregătit, poate folosi la punerea în evidenţă a elementelor solubile în apă, la determinarea *p*H-ului solului.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 97

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A ELEMENTELOR MINERALE DIN SOL

Elementele minerale din sol se pun în evidență folosind pentru fiecare element procedeul și reactivii menționați la punerea lor în evidență în cenușă (v. experiențele nr. 79—89). Pentru punerea în evidență a potasiului, sodiului și clorului se face un extract apos; pentru fier, aluminiu, magneziu, sulfați și carbonați se face un extract clorhidric, iar manganul și fosforul se pun în evidență în extract azotic.

Experiența nr. 98

ADSORBȚIA ELEMENTELOR MINERALE DE CĂTRE COMPLEXUL COLOIDAL AL SOLULUI

În solurile fertile se găsește o cantitate apreciabilă de coloizi organici și minerali (humați, silicați, hidrat feric etc.), cu o mare putere de adsorbție față de diferiți cationi și anioni din soluția solului.

Pentru punerea în evidență a adsorbției de către coloizii solului se iau două pîlnii egale în diametru (aproximativ de 10 cm) și se pune în ele aceeași cantitate de pămînt de grădină, pînă la ¾ din înălțimea lor, după ce în prealabil s-a pus la fundul lor puțină vată, ca să împiedice căderea particulelor de pămînt în jos.

a. Peste pămîntul din prima pîlnie se toarnă încet o soluție de fosfat acid de potasiu (KH_2PO_4) sau de sodiu (NaH_2PO_4) 0,125%, astfel ca să nu se scurgă din ea nimic în vasul colector. După 1—2 ore se adaugă peste pămîntul din pîlnie apă distilată, care se colectează în vasul de sub pîlnie. Se iau din această soluție 1—2 ml într-o eprubetă și se toarnă peste ea soluție de molibdat de amoniu 10%. Prin încălzire se obține un precipitat galben caracteristic de fosfomolibdat de amoniu, care, comparat cu fosfomolibdatul de amoniu obținut din soluția inițială (înainte de trecerea prin sol), se prezintă mult mai slab, deoarece coloizii solului au adsorbit o parte din anionii fosfatului cu care s-a lucrat. Cînd solul este mai bogat în coloizi, ionii pot fi reținuți complet.

b. Peste solul din pîlnia a doua, se toarnă încet, pentru a avea timp să se adsoarbă, o soluție de KNO_3 1%.

Cu lichidul colectat în vasul de sub pîlnie se face proba cu difenilamină (reactivul 32). Se va obține o colorație albastră, care în comparație cu cea obținută într-o porțiune din soluția inițială va fi mult mai deschisă.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 99

DETERMINAREA pH-ULUI SOLULUI

a) *Metoda cu salicilat de sodiu.* Această metodă este simplă şi expeditivă. Într-o eprubetă cu diametrul de 10—12 mm se pun 3—4 g de sol, mărunţit, uscat la temperatura camerei şi trecut prin sita de 1 mm. Se adaugă peste el o soluţie de salicilat de sodiu 5%, cam de 2 ori volumul solului. Se astupă eprubeta cu un dop, agitînd puternic un minut, şi apoi se aşteaptă 10—15 minute limpezirea suspensiei. În cazul cînd solul este mărunţit prea fin, limpezirea poate dura 1—2 ore sau chiar mai mult. Lichidul limpede din eprubetă ia o anumită culoare, în raport cu reacţia solului. Valoarea *p*H-ului corespunzător acestei culori se arată în tabelul 3.

Tabelul 3

Culoarea salicilatului de sodiu în funcţie de pH-ul solului

Culoarea lichidului	Reacţia mediului	Valoarea *p*H-ului
Roşu-închis	puternic acid	3,5—4,8
Roşcat	acid	4,8—5,5
Roşcat-portocaliu	moderat acid	5,5—6,5
Portocaliu pînă la incolor	slab acid	6,5—6,8
Incolor	neutru	6,8—7,2
Incolor pînă la galben	slab alcalin	7,2—8,0
Galben curat	moderat alcalin	8,0—8,4
Galben intens	puternic alcalin	> —8,4

b) *Cu ajutorul hîrtiei „indicator universal".* Valoarea *p*H-ului solului se poate afla uşor cu ajutorul hîrtiei „indicator universal". Se introduce un fragment din hîrtia „indicator universal" în extractul apos al solului. Hîrtia „indicator universal" îşi schimbă repede culoarea. Comparînd culoarea obţinută cu gama de culori etalon, se poate determina valoarea *p*H-ului, corespunzător culorii obţinute.

C. METODE CANTITATIVE PENTRU DETERMINAREA ELEMENTELOR MINERALE DIN PLANTE ŞI SOL

Experienţa nr. 100

DETERMINAREA AZOTULUI TOTAL DIN PLANTE ŞI SOL PRIN METODA KJELDAHL

a) *Determinarea azotului total din plante.* Se face cu ajutorul metodei descrise la expreienţa nr. 176.

Scanned with OKEN Scanner

b) *Determinarea azotului total din sol.* Azotul se găsește în sol mai ales sub formă organică (în resturi organice animale și vegetale) și în cantitate mică sub formă de minerale (de săruri de azot ușor asimilabile de către plante). Determinarea se face cu ajutorul metodei Kjeldahl (distilarea după metoda Parnas—Wagner).

Principiul metodei. Prin fierberea solului cu acid sulfuric concentrat în prezența unui catalizator, azotul conținut în substanțele organice se transformă în sulfit de amoniu. Acesta, tratat cu un exces de NaOH sau KOH, eliberează azotul sub formă de amoniac, care se prinde într-o soluție de H_2SO_4 de concentrație cunoscută. Acidul sulfuric rămas necombinat cu amoniacul se titrează cu o soluție de NaOH de concentrație cunoscută.

Prin diferență aflăm cantitatea de amoniac și din aceasta se calculează conținutul în azot al solului analizat.

Metoda de lucru. Determinarea are 3 etape: mineralizarea, distilarea, titrarea.

Mineralizarea. Se cîntărește la balanța analitică într-o nacelă 1 g de sol uscat la aer și trecut prin sita de 1 mm. Se trece cantitativ conținutul nacelei într-un balon Kjeldahl de 50 ml și se adaugă 10 ml H_2SO_4 concentrat tehnic (fără azot). Se umectează solul cu acid prin agitarea balonului, apoi se adaugă cîteva cristale de $CuSO_4$ p.a. (catalizator) și se astupă balonul cu o pîlnie uscată care împiedică evaporarea H_2SO_4 în timpul fierberii. Balonul se așază într-un vas de tuci sau din alt metal rezistent la foc pe un strat de nisip. Mineralizarea se face cu băgare de seamă, la început cu flacără mică, apoi flacăra se mărește, astfel ca să fiarbă moderat conținutul balonului, avînd grijă să nu stropească în afară. Mineralizarea durează 4—6 ore. Se consideră terminată cînd lichidul din balon este limpede și solul devine albicios.

Distilarea. Distilarea se face într-un aparat Parnas—Wagner (fig. 80), care se compune din următoarele părți: un balon cu fund rotund și gît lung (*a*), rezistent la foc, de circa 250 ml, în care pătrund 2 țevi de sticlă; una din ele (*b*) merge pînă la fundul balonului, avînd celălalt capăt în legătură cu un generator de vapori de apă (*c*) la presiune de o atmosferă, iar cealaltă țeavă este în legătură cu un refrigerent vertical (*d*), prin intermediul unui deflegmator de sticlă (*e*). Capătul de jos al refrigerentului intră într-un vas de titrare (*f*) de 100—150 ml. Între balonul de distilare și cel care servește ca generator de vapori se află vasul de siguranță (*g*). Generatorul de vapori se încălzește la flacăra unui bec de gaz.

Mersul distilării. Conținutul balonului de mineralizare se diluează cu apă distilată pînă la aproximativ 50 ml și se răcește. După răcire, soluția se trece cantitativ în balonul de distilare cu ajutorul pîlniei mici de deasupra acestuia, prin deschiderea clemei (*i*). Se spală de 4—5 ori cu circa 10 ml de apă distilată. Nu este nevoie ca reziduul din balon să fie trecut și el în mod cantitativ, ci numai să fie bine spălat. La sfîrșitul operațiilor de spălare, lichidul din balonul de distilare trebuie să ajungă cel mult la jumătatea vasului.

Scanned with OKEN Scanner

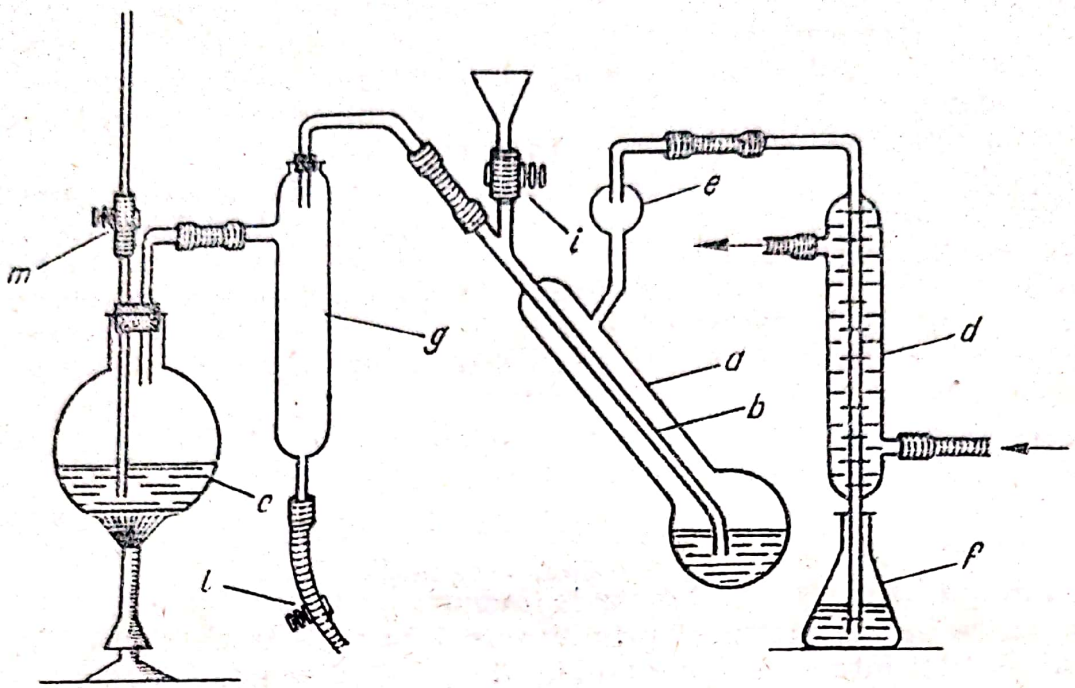


Fig. 80. Aparatul Parnas — Wagner :
a — balon cu fund rotund și gît lung ; *b* — țeavă de sticlă ce merge pînă în fundul balonului ; *c* — generator de vapori de apă ; *d* — refrigerent ; *e* — deflegmator ; *f* — vas de titrare ; *g* — vas de siguranță ; *m*, *i* și *l* — cleme.

Într-un vas de titrare de 100—150 ml se pipetează exact 5 ml de acid sulfuric 0,1 *n* (reactivul 8 *b*). Se adaugă puțină apă distilată (circa 5 ml) și 3—4 picături de roșu de metil (reactivul 60). Se potrivește vasul de titrare la țeava refrigerentului astfel ca ea să pătrundă în acid. Se adaugă în balonul de distilare 5—8 picături de fenolftaleină (reactivul 33) și se adaugă o soluție concentrată de NaOH 33% pînă cînd lichidul din balon se colorează în violet intens. Dacă s-a adăugat o cantitate prea mare de NaOH, lichidul devine din nou incolor (ceea ce nu dăunează determinării).

Prin neutralizare, amoniacul legat sub formă de $(NH_4)_2SO_4$ se eliberează și poate fi prins în vasul de distilare. În acest scop s-a încălzit în prealabil apa din generatorul de vapori. După neutralizare se dă drumul vaporilor de apă să circule prin aparat, menținîndu-se o încălzire potrivită sub generator. În același timp se închide clema (*i*) care permite comunicarea balonului de distilare cu exteriorul și clema (*l*) vasului de siguranță. Clema (*m*) de la tubul generatorului, tub care merge pînă la fundul acestuia și care menține presiunea în generator la o atmosferă, rămîne deschisă tot timpul distilării. Totodată, se dă drumul apei să circule în refrigerent pentru ca vaporii care dizolvă amoniacul să se poată condensa și deci prinde mai ușor în vasul de titrare.

Încălzirea apei din generator trebuie astfel condusă, încît antrenarea vaporilor de amoniac din balonul de distilare să nu se facă prea puternic, astfel ca lichidul din acest balon să nu ajungă pînă la deflegmator. Dacă în timpul distilării culoarea acidului din vasul de

titrare se schimbă în galben, înseamnă că solul a avut prea mult azot față de cantitatea de acid întrebuințat. În acest caz, operațiile trebuie reluate, punînd în vasul de titrare mai mult acid sulfuric (10—20 ml).

Se continuă distilarea pînă ce vasul de distilare este plin cam pe trei sferturi. După o spălare prealabilă a țevii refrigerentului cu apă distilată cu ajutorul unei pisete, se scoate vasul de titrare de la refrigerent. Se stinge flacăra becului de la generatorul de vapori, se închide clema (*m*) de la tubul generatorului, iar la capătul țevii refrigerentului se pune un pahar de circa 150 ml, plin cu apă distilată. Prin răcirea balonului generatorului se produce un vid, apa din pahar este trasă în balonul de distilare prin intermediul refrigerentului și apoi evacuată în tubul de siguranță. După această primă spălare se deschide clema (*l*) a tubului de siguranță, pentru ca să se elimine apa de spălare, apoi clema se închide, se umple din nou paharul refrigerentului cu apă și se procedează la o nouă spălare. Astfel se curăță automat acest aparat.

Cînd se începe o nouă determinare, se deschide clema de la generatorul de vapori.

Titrarea. Conținutul vasului de titrare se titrează cu NaOH 0,1 *n* (reactivul 42) pînă cînd soluția devine incoloră sau slab gălbuie. Dacă s-a pus un exces de hidroxid se poate corecta greșeala, adăugînd un număr cunoscut de mililitri de H_2SO_4 și retitrînd cu NaOH.

Înainte de a începe o serie de determinări, se vor face probe oarbe, întrebuințînd reactivii respectivi, iar în loc de sol se vor întrebuința 0,5 g de zaharoză. Este de la sine înțeles că rezultatul acestor determinări trebuie să arate că reactivii nu conțin azot. Cu alte cuvinte, trebuie să obținem la titrarea celor 5 ml H_2SO_4 0,1 *n* cantitatea exact corespunzătoare de NaOH 0,1 *n*, adică tot 5 ml (evident, după efectuarea tuturor operațiilor de distilare, fără substanță organică de analizat).

În timpul distilării amoniacului, vaporii fierbinți dizolvă cantități mici de alcalii, conținuți în sticla aparaturii. Aceștia neutralizează o parte corespunzătoare de H_2SO_4 0,1 *n* conținut în vasul de titrare. La analizele exacte, aceste cantități, determinate în probele oarbe preliminare, se scad din valorile obținute.

Calcularea rezultatelor analizei. Să presupunem că cei *m* ml de H_2SO_4 0,1 *n* au fost titrați cu *n* ml de NaOH 0,1 *n*. Diferența $m - n = a$ ml de H_2SO_4 0,1 *n* care au fost întrebuințați spre a neutraliza amoniacul format; știind că 1 ml de H_2SO_4 0,1 *n* corespunde la 0,0014 g de azot, pentru *s* g de substanță cîntărită vom avea:

$$N\ \% = \frac{0{,}0014 \times a \times 100}{s}$$

Rezultatele se raportează la solul absolut uscat.

Interpretarea rezultatelor: Dacă solul conține sub 0,100 g % de azot total, se consideră că are un conținut de azot submediocru. Solurile cu conținut mediocru au 0,1—0,15% azot total, iar solurile cu conținut normal au 0,15—0,20% azot total.

Experienţa nr. 101

DETERMINAREA AZOTULUI TOTAL DIN PLANTE ŞI SOL PRIN METODA COLORIMETRICĂ (DUPĂ L. L. SCETININA ŞI V. A. BUTENKO)

Pentru determinarea azotului total prin această metodă simplificată se menţine procesul de mineralizare după metoda Kjeldahl, însă se suprimă separarea amoniacului prin distilare. Se determină azotul captat de acidul sulfuric sub formă de sulfat de amoniu prin colorimetrare în prezenţa reactivului Nessler.

Modul de lucru. Se introduce în balonul Kjeldahl cu fundul rotund o probă de 1—2 g de sol sau 0,1—1 g de material vegetal, în funcţie de conţinutul de azot din probă, presupus de noi. Pentru a accelera mineralizarea substanţei organice se adaugă probei drept catalizatori 0,2 g de sulfat de cupru şi 2 g de sulfat de potasiu cristalizat. Se toarnă apoi, prelins pe peretele vasului, 10 ml de acid sulfuric concentrat, cu greutatea specifică de 1,84; conţinutul balonului este agitat şi încălzit pînă la fierbere. Încălzirea se intensifică treptat şi lichidul este fiert pînă cînd se decolorează complet. După răcire, tot conţinutul balonului este diluat cu grijă cu apă şi trecut într-un balon cotat de 500 ml. Balonul în care a fost mineralizată proba se spală minuţios cu apă distilată, care se toarnă apoi în balonul cotat; se umple balonul pînă la semn, se agită şi se filtrează. Se iau apoi 10 ml de filtrat şi se introduc într-un balon cotat cu capacitatea de 100—250 ml, în funcţie de conţinutul amoniului din probă. Se adaugă imediat 1 ml de soluţie de sare Seignette 25% (în caz contrar, soluţiile se obţin adeseori turburi, ceea ce împiedică colorimetrarea) şi volumul lichidului este completat cu apă pînă la 85—95 ml, după care se adaugă cîteva picături de soluţie de hidroxid de sodiu (pînă se obţine reacţia slab acidă constatată după turnesol), şi apoi se adaugă 2 ml din reactivul Nessler (reactivul 56). Volumul lichidului este completat pînă la semn, apoi se amestecă bine şi după 15 minute se colorimetrează (v. experienţa nr. 152).

Prepararea soluţiei etalon. Drept soluţie etalon se utilizează o soluţie de sulfat de amoniu care conţine 10 mg NH_4 la litru şi aceleaşi cantităţi de etalon sulfat de potasiu, sulfat de cupru, acid sulfuric şi hidroxid de sodiu, care au fost adăugate în probele de sol şi de plante analizate, deoarece lipsa lor modifică densitatea optică a soluţiei. Afară de aceasta, prezenţa ionilor de potasiu şi de cupru exercită o influenţă asupra intensităţii culorii soluţiei, atunci cînd se adaugă reactivul Nessler.

Experienţa nr. 102

DETERMINAREA ACIDULUI FOSFORIC DIN PLANTE ŞI SOL

Principiul metodei se bazează pe însuşirea acidului fosforic de a da o culoare albastră cu molibdatul de amoniu în prezenţa clorurii stanoase ($SnCl_2$). Intensitatea culorii este proporţională cu cantitatea de acid fosforic din soluţie, care se determină prin colorimetrare.

Scanned with OKEN Scanner

a) *Determinarea acidului fosforic din plante.* Pentru determinarea acidului fosforic din plante, materialul vegetal se calcinează, iar cenușa, după răcire în exsicator, se umectează cu cîteva picături de apă distilată și după aceea se dizolvă în 2—3 ml HCl 25% (reactivul 4 *d*), amestecînd cu o baghetă de sticlă în timpul dizolvării. Extractul clorhidric de cenușă se trece într-un balon cotat de 100 ml (balonul nr. 1), împreună cu apele de spălare ale creuzetului și ale baghetei de sticlă folosite la dizolvare.

După răcire se completează balonul cu apă distilată pînă la semn și se agită. Se lasă balonul în repaus să se sedimenteze particulele nedizolvate, după care se iau 10 ml din soluția clară și se pun într-un alt balon cotat de 100 ml (balon nr. 2). Se adaugă apoi în balon o picătură de fenolftaleină 1% (reactivul 33) și se neutralizează conținutul cu o soluție de NH_4OH 1% (reactiv 37 *d*) pînă la culoarea roz pal. Se completează balonul cu apă distilată pînă la semn și se agită.

Din balonul nr. 2 se iau într-un alt balon cotat de 100 ml 5—10 ml de soluție de analizat, se adaugă 75—85 ml de apă distilată și 2,5 ml de soluție de molibdat de amoniu în acid sulfuric (reactivul 47). Se agită apoi conținutul balonului, se adaugă 0,25 ml de clorură stanoasă (reactiv 29) și se completează balonul cu apă distilată pînă la semn, după care se agită bine. În urma adăugării clorurii stanoase, conținutul balonului se colorează în albastru proporțional cu concentrația acidului fosforic din probă, a cărui cantitate se determină prin colorimetrare (v. experiența nr. 152).

La colorimetrare se folosesc soluții etalon pregătite în felul următor: se introduc în 3 baloane cotate de 100 ml: 10, 20 și, respectiv, 30 ml de soluție etalon (reactiv 62) și aproximativ 80, 70 și 60 ml de apă distilată.

După aceea, se adaugă în fiecare balon cîte 2,5 ml de soluție de molibdat de amoniu în acid sulfuric. Se agită baloanele, li se adaugă cîte 0,25 ml de soluție de clorură stanoasă, se aduc baloanele la semn cu apă distilată și se agită bine conținutul lor.

Pentru colorimetrare se va folosi acea soluție etalon a cărei culoare este mai apropiată de culoarea probei de analizat. Intensitatea maximă a colorației apare după 15 minute, în urma completării baloanelor cotate pînă la semn.

Determinarea colorimetrică se începe din acest moment. Pentru calcularea rezultatului se are în vedere faptul că 1 ml de soluție etalon conține 0,003 mg P_2O_5; în primul balon, în care s-au pus 10 ml de soluție etalon, vor fi 0,03 mg P_2O_5, în al doilea 0,06 mg, iar în al treilea 0,09 mg.

Cantitatea de P_2O_5 se află cu ajutorul formulei:

$$\text{mg } P_2O_5\ \% = \frac{a \times b \times k \times 100}{n \times l},$$

în care:

a este numărul de mililitri de soluţie etalon introdusă în balonul cotat de 100 ml;

b — cantitatea de P_2O_5 aflată într-un mililitru de soluţie etalon, în mg;

k — citirea pe scara corespunzătoare soluţiei etalon la colorimetru, în mm;

n — greutatea substanţei absolut uscate, în mg, aflată în cantitatea de soluţie de analizat luată pentru determinare;

l — citirea pe scara corespunzătoare soluţiei de analizat la colorimetru, în mm.

Valoarea lui *n* se află în felul următor:

Dacă pentru determinare, din balonul nr. 2, se iau 10 ml de soluţie de analizat, care corespunde la 1 ml de soluţie clorhidrică din balonul nr. 1 sau la 1/100 parte din P_2O_5 aflat în proba de substanţă absolut uscată, atunci *n* va fi egal cu 1/100 din greutatea probei.

Fosforul este unul dintre elementele minerale din sol greu accesibile plantelor, deoarece se găseşte fie în resturi organice, fie formînd săruri insolubile, ca fosfat tricalcic etc.

b) *Determinarea acidului fosforic din sol.* Pentru determinarea acidului fosforic din sol, accesibil plantelor, se iau 10 g de sol într-un balon Erlenmeyer de 500 ml, se adaugă 250 ml de acid acetic 0,5 *n* (reactivul 2 *a*) şi se agită la agitator timp de o oră. După aceea, se lasă în repaus 24 de ore şi se filtrează printr-un filtru cutat. Din filtrat se iau 10—20 ml într-o capsulă de porţelan şi se evaporă pe baia de apă pînă la sec. Reziduul obţinut se dizolvă în 10 ml H_2SO_4 27% (reactivul 8 *f*) şi se trece într-un balon cotat de 100 ml (balonul nr. 1), în care se adaugă şi apele de spălare ale capsulei. Se completează conţinutul balonului pînă la semn, se agită bine şi după aceea se iau 10 ml de soluţie de analizat, într-un alt balon (balonul nr. 2) de 100 ml, se adaugă o picătură de fenolftaleină (reactivul 33), se neutralizează conţinutul balonului cu o soluţie de NH_4OH 1% (reactivul 37 *d*) pînă la coloraţia roz pal. După aceea se completează cu apă distilată pînă la semn şi se agită bine conţinutul balonului.

Se iau apoi, din balonul nr. 2, 5—10 ml de soluţie de analizat într-un alt balon cotat de 100 ml, se adaugă 10 ml de acid sulfuric diluat (reactivul 8 *c*) şi 2,5 ml de soluţie de molibdat de amoniu în acid sulfuric (reactivul 47). Se introduc apoi în balon 65—70 ml de apă distilată, se agită bine, se adaugă după aceea 0,25 ml de soluţie de clorură stanoasă (reactivul 29), se completează cu apă distilată pînă la semn, agitîndu-se din nou conţinutul balonului.

Cantitatea de acid fosforic din probă se determină prin colorimetrare, servindu-ne de soluţiile etalon indicate la punctul a. Colorimetrarea soluţiei se începe după 15 minute, însă nu mai tîrziu de o oră.

Rezultatele analizei se exprimă în mg P_2O_5 la 100 g de sol uscat la aer cu ajutorul formulei de la punctul *a*, în care *n* va reprezenta greutatea probei de sol, în grame, corespunzătoare volumului filtratului luat pentru determinare, evaporat şi introdus în balonul de 100 ml.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 103

DETERMINAREA POTASIULUI DIN PLANTE ȘI DIN SOL

a) *Determinarea potasiului din plante prin metoda cobalt-nitritului.* Materialul vegetal se calcinează, iar cenușa, după răcirea în exsicator, se umectează cu cîteva picături de apă distilată și după aceea se dizolvă în 2—3 ml HCl 25% (reactivul 4 *d*), amestecînd cu o baghetă de sticlă în timpul dizolvării. Extractul clorhidric de cenușă se trece într-un balon cotat de 100 ml (împreună cu apele de spălare ale creuzetului și ale baghetei de sticlă, folosite la dizolvare). Se completează cu apă distilată pînă la semn, se agită și se lasă balonul în repaus. După depunerea particulelor insolubile se ia într-o capsulă de porțelan un volum de soluție care corespunde la 0,25 g de cenușă și se evaporă la sec. Reziduul din capsulă se tratează cu 5 ml HCl concentrat, se amestecă bine cu o baghetă și se evaporă din nou.

Tratarea cu acid și evaporarea se repetă de cîteva ori pentru precipitarea acidului silicic coloidal ce se găsește în cantități mai mari în cenușa de paie. Acidul silicic precipitat se îndepărtează prin filtrare, folosind hîrtia de filtru cu porozitate mare (banda albă). În acest scop, reziduul din capsulă se tratează de 3—4 ori cu cantități mici de apă distilată fierbinte și acidulată cu HCl. Soluția obținută se filtrează fierbinte și, în cazul cînd filtratul este tulbure, înseamnă că precipitarea acidului silicic s-a făcut incomplet. De aceea, este nevoie ca filtratul să se evapore din nou și să se trateze de două ori cu acid clorhidric.

Filtratul limpede se introduce într-o capsulă curată de porțelan și se evaporă pînă la un volum mic (de 10 ml) la baia de apă. Se adaugă o picătură de metil oranj în soluție apoasă 0,05% și se neutralizează cu NaOH 8% pînă la virarea colorației roșii în galben-auriu. Din aceasta se iau 10 ml de soluție într-o altă capsulă de porțelan și se încălzește la baia de apă pînă la 80—90°C; apoi se precipită potasiul cu 10 ml de soluție de cobalt-nitrit de sodiu (reactivul 30), care se adaugă picătură cu picătură. Se evaporă la temperatura de 80—90°C pînă la consistența de pastă, amestecînd din cînd în cînd cu o baghetă de sticlă. Se lasă să se răcească și se amestecă bine cu 3 ml de acid acetic 10% (reactivul 2 *c*). Se adaugă apoi 10 ml de apă și se filtrează la vid printr-un creuzet cu masă filtrantă nr. 4. Se spală precipitatul prin decantare, apoi pe filtru, cu o soluție de Na_2SO_4 2,5%, pînă cînd filtratul devine incolor. După aceasta se descompune precipitatul cu permanganat de potasiu în felul următor: într-un pahar de 750—800 ml se toarnă 250 ml de apă distilată și 50 ml $KMnO_4$ 0,1 *n* (reactivul 50 *a*) și se încălzește pînă la 80°C pe o baie de apă. În soluția fierbinte se introduce creuzetul cu precipitatul, se amestecă ușor 2—3 minute, după care se adaugă 10—15 ml H_2SO_4 diluat (1 parte acid în 7 părți apă).

Se încălzește pînă ce tot precipitatul galben de pe filtru e trecut în soluție. Culoarea soluției în pahar trebuie să rămînă tot timpul violetă. În cazul în care soluția se decolorează (ceea ce arată că per-

manganatul este în cantitate mică) se adaugă din biuretă încă 3—4 ml de permanganat, de care se va ţine seama la calcul.

După dizolvarea completă a precipitatului (dispariţia sării galbene de pe filtru) se adaugă din biuretă în soluţia fierbinte o cantitate exact măsurată de acid oxalic 0,1 *n* (reactivul 6 *a*) pînă la completa decolorare a soluţiei. Excesul de acid oxalic se retitrează cu permanganat pînă la coloraţia albă-roz. Scăzînd din cantitatea totală de permanganat folosit cantitatea de acid oxalic adăugat, determinăm cantitatea de permanganat necesară pentru descompunerea precipitatului care conţine potasiu.

Cantitatea de K_2O din substanţa de analizat se calculează folosind următoarea formulă:

$$x\ \% = \frac{[(a+b)\cdot T_1 - v\cdot T_2]\cdot 100\cdot 100}{n(100-y)}\cdot 0{,}000856,$$

unde:

a	reprezintă	mililitri de permanganat de potasiu 0,1 *n* introduşi în pahar pentru descompunerea precipitatului;
T_1	—	factorul permanganatului;
v	—	mililitri de acid oxalic 0,1 *n* consumaţi la titrarea excesului de permanganat de potasiu;
T_2	—	factorul acidului oxalic;
b	—	mililitri de permanganat de potasiu 0,1 *n* folosiţi la retitrare;
0,000856	—	grame K_2O care corespund la fiecare mililitru de permanganat folosit la titrare;
n	—	proba de analizat, în grame, corespunzătoare soluţiei luată pentru analiză;
$\frac{100}{100-y}$	—	factor pentru calcularea rezultatelor la substanţa absolut uscată;
y	—	cantitatea de apă din ţesut.

b) *Determinarea potasiului din sol (după metoda E. A. Brovkina).* Potasiul se găseşte în sol sub o formă uşor accesibilă plantelor (de săruri solubile).

Metoda se bazează pe precipitarea potasiului extras din sol cu cobalt-nitritul de sodiu, după reacţia:

$$2KCl + Na_3CO(NO_2)_6 = 2NaCl + K_2NaCO(NO_2)_6$$

La baza acestei metode stă principiul concentraţiilor limită, care constă în aceea că formarea precipitatului nu se produce dacă potasiul se găseşte sub o anumită concentraţie, numită concentraţie limită. Valorile minime ale concentraţiilor de potasiu (în mg/l) la care nu se mai formează precipitatul au fost stabilite experimental pentru diferite temperaturi şi sînt trecute în tabelul 4.

Mersul analizei. Se cîntăresc la balanţa tehnică 2 probe de cîte 15 g de sol; una din ele se usucă în termostat la 100—105°C pentru

Tabelul 4

Raportul între temperatura și solubilitatea sării complexe $K_2NaCO(NO_2)_6$

Temperatura °C	Conținutul de K_2O la litru mg	Temperatura °C	Conținutul de K_2O la litru mg
24	24	17	17
23	23	16	16
22	22	15	15
21	21	14	14
20	20	13	13
19	19	12	12
18	18		

Tabelul 5

Cantitățile de extract care se pun în eprubete

Numărul eprubetei	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Cantitatea de extract, în ml	5	4	3	2,5	2,0	1,8	1,5	1,2	1,0	0,8	Se introduce termometrul
Greutatea de sol corespunzătoare în g	2,0	1,60	1,20	1,0	0,80	0,72	0,60	0,48	0,40	0,32	

aflarea greutății uscate, iar a doua servește pentru determinarea potasiului. Peste aceasta se adaugă 75 ml HCl 0,2 *n* (reactivul 4 *a*) și se agită timp de o oră, după care se filtrează prin hîrtie de filtru. Din filtrat se iau 50 ml într-o capsulă de porțelan, se evaporă la sec pe baia de apă și apoi se calcinează ușor pentru îndepărtarea sărurilor de amoniu. După răcire se adaugă în capsulă 25 ml NaCl 1 *n* (reactivul 28 *b*) și se dizolvă conținutul, agitînd cu o baghetă de sticlă, cu vîrful de cauciuc.

Se filtrează apoi soluția, din care se toarnă în 10 eprubete cantitățile menționate în tabelul 5.

Se completează soluțiile din eprubetă cu NaCl 1 *n* pînă la un volum de 5 ml. Se adaugă apoi în fiecare eprubetă cîte 0,1 g de reactiv solid de $Na_3CO(NO_2)_6$, se agită eprubetele și se lasă 30 minute în repaus la temperatura de 16—18°C. Se notează prima eprubetă din serie în care nu s-a produs precipitat (în eprubeta în care nu se observă o tulbureală). Soluția din această eprubetă are o concentrație limită.

Calcularea rezultatelor. Să presupunem că s-a experimentat la temperatura de 17°C și că în eprubetele 9 și 10 nu s-a format precipitat. Aceasta înseamnă că în prima eprubetă (nr. 9 cu 1 ml de filtrat) concentrația de K_2O este egală cu 17 mg la litru sau 0,017 mg la un mililitru. Volumul soluției din eprubetă fiind egal cu 5 ml, îi vor corespunde

0,085 mg K_2O (0,017 × 5). La rîndul său, la 1 de ml extract corespund 0,4 g de sol uscat la aer (inițial, 75 ml de extract corespund la 15 g de sol, adică 5 ml la 1 g, însă pentru evaporare au fost luați 50 ml, ceea ce corespunde la 10 g de sol; reziduul din capsulă a fost tratat cu 25 ml de NaCl, deci acest volum cuprinde potasiul extras din 10 g de sol; rezultă că 1 ml din această ultimă soluție este echivalent cu cantitatea de potasiu corespunzătoare la 0,4 g de sol).

Pentru a trece de la 0,4 g de sol la 100 g de sol se înmulțește rezultatul (0,085 mg) cu 250. În felul acesta aflăm că solul nostru conține 21,25 mg K_2O la 100 g.

Pentru a raporta datele analizei la greutatea solului absolut uscat este necesar să facem calculul:

$$\frac{21{,}25 \cdot 100}{100-y},$$

unde y este procentul de umiditate higroscopică.

Experiența nr. 104

DETERMINAREA CALCIULUI DIN PLANTE ȘI DIN SOL

a) *Determinarea calciului din plante. Principiul metodei.* Clorura de calciu ($CaCl_2$) obținută prin tratarea cenușii plantelor cu HCl se separă de celelalte combinații prin precipitare sub formă de oxalat de calciu cu ajutorul oxalatului de amoniu. Precipitatul format se spală de excesul de oxalat de amoniu și se dizolvă în acid sulfuric. În urma reacției dintre oxalatul de calciu și acidul sulfuric, rezultă acid oxalic în cantitate echivalentă cu calciul aflat în precipitat. Acidul oxalic se titrează cu permanganat de potasiu.

Materialul vegetal se calcinează, se răcește apoi cenușa în exsicator și se umectează cu cîteva picături de apă distilată, adăugîndu-se 2—3 ml HCl 25% (reactivul 4 *d*). Se amestecă cu o baghetă de sticlă pentru a grăbi dizolvarea, după care extractul clorhidric se trece într-un balon cotat de 100 ml, în care se toarnă și apele de spălare. Se aduce apoi la semn cu apă distilată, se agită și apoi se lasă în repaus, pentru ca particulele nedizolvate să se sedimenteze. Din lichidul limpede se iau 50 ml într-un pahar Berzelius cu o capacitate de 200—250 ml, se adaugă o picătură de roșu de metil (reactivul 60) și se neutralizează cu o soluție de NH_4OH 10% (reactivul 37 *b*).

Neutralizarea se face turnînd treptat soluție de NH_4OH din biuretă pînă cînd soluția din pahar se colorează în slab gălbui. În timpul neutralizării, conținutul balonului se amestecă cu o baghetă de sticlă prevăzută cu un vîrf de cauciuc.

În cazul cînd în timpul neutralizării apare un precipitat floconos de hidroxid de fier și aluminiu, acesta se înlătură prin filtrare printr-un filtru cantitativ cu porozitate mare.

Scanned with OKEN Scanner

Se spală precipitatul de pe filtru cu apă distilată alcalinizată slab cu NH_4OH pînă cînd în ultima porțiune a filtratului nu se mai pun în evidență ionii de clor. În acest scop, porțiunea de filtrat se tratează cu soluție de $AgNO_3$ 3%.

Filtratul și apele de spălare care au fost culese într-un pahar Berzelius se acidulează cu acid acetic 10% (reactivul 2 *c*) pînă la colorarea în roșu. Dacă volumul lichidului din pahar depășește după acidulare 150—200 ml, volumul lui se reduce prin evaporare la baie de apă pînă la 100 ml. După aceea se încălzește lichidul din pahar pînă la fierbere și i se adaugă picătură cu picătură 15 ml dintr-o soluție saturată de oxalat de amoniu (reactivul 49), care a fost încălzită în prealabil pînă la fierbere. În timpul adăugării oxalatului de amoniu, soluția din pahar se amestecă cu o baghetă de sticlă. Prin adăugarea acestui reactiv are loc precipitarea calciului sub formă de oxalat de calciu, după reacția:

$$CaCl_2 + (NH_4)_2CO_2O_4 = CaC_2O_4 + 2NH_4Cl$$

Se acoperă paharul cu o sticlă de ceas și se ține timp de 4 ore la căldură, în termostat. După trecerea acestui interval de timp este necesar să se verifice dacă precipitarea calciului a fost completă. Pentru aceasta se ia cu ajutorul unei baghete o picătură din soluția limpede, se pune într-o sticlă de ceas și i se adaugă o picătură dintr-o soluție diluată de $CaCl_2$. Dacă apare un precipitat alb, aceasta înseamnă că în pahar se găsește un exces de oxalat de amoniu și că precipitarea calciului a fost completă. Dacă nu apare un precipitat alb, se încălzește conținutul paharului și i se adaugă încă 5 ml din soluția saturată de oxalat de amoniu, încălzită în prealabil pînă la fierbere. Se lasă apoi paharul timp de 4 ore în termostat, după care se verifică dacă precipitarea calciului a fost sau nu completă.

După precipitarea completă a calciului se filtrează soluția din pahar printr-o hîrtie de filtru cantitativă cu porozitate mică (cu bandă albastră), care în prealabil se umectează cu apă distilată pentru ca să adere bine de pereții pîlniei.

Precipitatul se trece cantitativ pe hîrtia de filtru, adunînd cu bagheta cu vîrf de cauciuc cristalele de oxalat de calciu de pe pereții paharului și clătind paharul de mai multe ori cu porțiuni mici de apă distilată fierbinte.

Apa de spălare trebuie să conțină puțin oxalat de amoniu (cîteva cristale la o pisetă), pentru a împiedica dizolvarea unei părți a precipitatului. Se continuă spălarea precipitatului pînă cînd apele de spălare nu mai dau reacția pentru ionii de clor (pînă cînd nu se mai tulbură prin adăugare de $AgNO_3$ acidulat cu HNO_3 — reactivul 15).

După spălarea precipitatului se așază sub pîlnie un pahar Berzelius curat și se dizolvă precipitatul de pe filtru prin adăugare de H_2SO_4 1% (reactivul 8 *i*). H_2SO_4 se adaugă pe filtru în porțiuni mici, pînă ce precipitatul se dizolvă complet. Reacția care are loc este următoarea:

$$CaC_2O_4 + H_2SO_4 = CaSO_4 + H_2C_2O_4$$

Scanned with OKEN Scanner

După aceea se adaugă în pahar 5 ml H_2SO_4 10% (reactivul 8 *h*) şi se încălzeşte conţinutul paharului la un bec Bunsen sau la o plită electrică pînă la aproximativ 80°C. Se titrează cu o soluţie de permanganat de potasiu 0,05 *n* (reactivul 50 *b*) pînă la apariţia unei coloraţii slab roz, care persistă timp de un minut.

Reacţia care are loc este următoarea:

$$5H_2C_2O_4 + 2KMgO_4 + 3H_2SO_4 = 10CO_2 + 2MnSO_4 + K_2SO_4 + 8H_2$$

Cantitatea de calciu din proba de analizat se calculează după formula:

$$g\ Ca\ \% = \frac{0{,}001 \times a \times F \times 2 \times 100}{n},$$

în care:

0,001 este cantitatea de calciu care corespunde la 1 ml de $KMnO_4$, 0,05 *n*, în g;

a — numărul de mililitri de $KMnO_4$ consumaţi la titrare;

F — factorul soluţiei de $KMnO_4$;

2 — coeficientul pentru calcularea calciului din cantitatea totală de cenuşă (pentru analiză, din balonul cotat de 100 ml s-au luat doar 50 ml de soluţie, care corespund la jumătate din greutatea cenuşii);

n — cantitatea de substanţă absolut uscată, luată pentru obţinerea cenuşii, în g.

b) *Determinarea calciului din sol cu ajutorul calcimetrului A. Bernard.* Calcimetrul Bernard (fig. 81) este alcătuit dintr-un tub de biuretă *b* gradat în mililitri, închis la capătul superior cu dopul de cauciuc *d* prin care trece un tub de sticlă *t* îndoit de 2 ori în unghi drept. Acesta se continuă la capătul liber cu tubul de vid *v*, prevăzut cu un tub de sticlă, care trece prin dopul de cauciuc al flaconului *g*. Prin dopul flaconului mai trece încă un tub de sticlă cu robinet sau, în lipsa lui, un tub de sticlă prelungit cu un tub de cauciuc, ce se poate închide cu pensa *p*.

Capătul inferior al biuretei se continuă cu un tub de cauciuc, terminat cu para de sticlă *s*.

La începutul determinării se toarnă apă în para de sticlă pînă ce nivelul apei din biuretă se ridică la diviziunea zero. Nivelul din para de sticlă şi din biuretă trebuie să fie acelaşi.

Experienţa se efectuează cu pămînt uscat la temperatura camerei, nu la foc, ca să nu se piardă bioxidul de carbon (CO_2).

Introducem în flaconul *g* o cantitate de 1—4 g de sol, în funcţie de cantitatea de Ca pe care o conţine, şi 3—4 ml de apă distilată. În flaconul *g* se introduce, cu atenţie (să nu se răstoarne) o eprubetă mică

în care punem acid clorhidric diluat cu apă în părți egale, pînă la $^3/_4$ din înălțimea ei.

Se astupă bine flaconul. Pensa *p* permite eliminarea excesului de aer rezultat prin introducerea dopului. Se închide pensa și se apucă flaconul ușor cu degetele de gîtul lui, pentru a se evita dilatarea aerului din interior.

Aplecînd binișor flaconul, acidul clorhidric se revarsă peste pămînt. Se agită avînd grijă ca acidul să vină în contact și cu particulele de sol rămase pe pereți, fără să se astupe însă capătul inferior al tubului *v*.

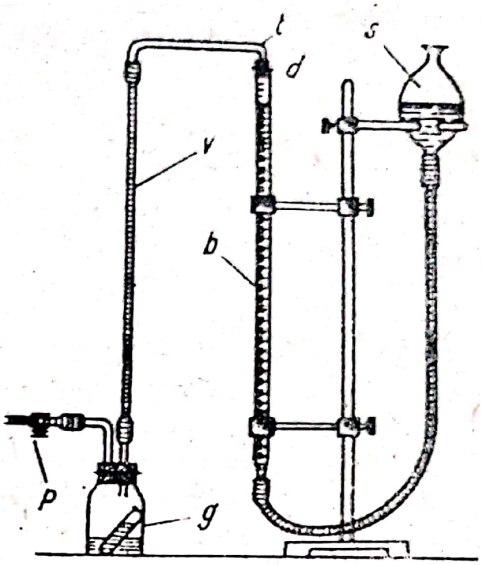


Fig. 81. Calcimetrul Bernard : *b* — tub de biuretă ; *d* — dop de cauciuc ; *t* — tub de sticlă îndoit de două ori în unghi drept ; *v* — tub de vid ; *g* — flacon în care se pune proba ; *p* — pensă ; *s* — pară de sticlă.

Bioxidul de carbon degajat prin descompunerea $CaCO_3$, în prezența acidului, trece din flaconul *g* în tubul *t*, coborînd nivelul apei cu atît mai mult cu cît se degajă mai mult bioxid de carbon.

În timpul determinării, nivelul apei din para de sticlă se menține la aceeași înălțime cu al apei din tubul *b*, pentru ca bioxidul de carbon să se degaje la presiunea atmosferică.

La calcularea rezultatului se are în vedere faptul că în carbonat există un raport determinat între calciu, pe de o parte, și între anionul CO_3, pe de altă parte.

Stabilind cantitatea de CO_2, se poate calcula cantitatea corespunzătoare de $CaCO_3$. Știind că 1 cm^3 CO_2 la 0°C și 760 mm presiune atmosferică are o greutate de 1,9769 mg, se poate calcula greutatea totală a CO_2 degajat.

Din formula chimică a $CaCO_3$ se știe că 100 g $CaCO_3$ conțin 44 g CO_2 și, notînd cu *a* greutatea în grame a volumului de CO_2 degajat, cantitatea corespunzătoare de $CaCO_3$ din probă se calculează după formula:

$$CaCO_3\ \% = \frac{a \times 100 \times 100 \times 100}{n \times 44\ (100 - y)},$$

în care:

a este greutatea volumului de CO_2 degajat, în g.

n — cantitatea de sol luată pentru determinare, în g;

$\frac{100}{100 - y}$ — factor pentru raportarea rezultatului la sol absolut uscat, în care y este cantitatea apei din sol.

D. ÎNGRĂȘĂMINTELE CHIMICE

Experiența nr. 105

IDENTIFICAREA RAPIDĂ A PRINCIPALELOR ÎNGRĂȘĂMINTE MINERALE

După aspectul exterior, îngrășămintele minerale pot fi cristalizate sau amorfe.

Sub formă de cristale se prezintă toate îngrășămintele azotate (cu excepția cianamidei de calciu) și toate îngrășămintele potasice.

Forma amorfă este caracteristică îngrășămintelor de fosfor și calciu.

Folosind ca indicator comportarea îngrășămintelor față de apă, putem împărți ușor toate îngrășămintele minerale în două grupe mari: îngrășăminte azotate și potasice (solubile în apă) și îngrășăminte de fosfor și calciu (insolubile în apă).

Folosind cîțiva reactivi, putem identifica ușor diferitele îngrășăminte din cele două grupe mari.

Determinările se încep cu prima grupă, cu sărurile sub formă de cristale, ușor solubile în apă. Se cercetează la început comportarea cristalelor pe cărbune de lemn încins. Dacă îngrășămîntul presărat pe cărbune încins face explozie și arde imediat, este un îngrășămînt cu azot.

Îngrășămintele azotate se deosebesc între ele în primul rînd după culoarea flăcării. Arzînd pe cărbune încins azotatul de amoniu, el arde cu flacără incoloră (uneori numai se topește, fierbe și produce un fum alb, cu miros de amoniac); azotatul de sodiu face explozie și arde repede cu o flacără galbenă; azotatul de potasiu face explozie și arde cu flacără violetă.

În al doilea rînd, aceste îngrășăminte se deosebesc după reacția pe care o dau cu un hidroxid; prin tratarea unei soluții de azotat de amoniu într-o eprubetă cu o soluție de hidroxid de sodiu sau potasiu (8—10%) se degajă amoniac, care se recunoaște ușor după mirosul său caracteristic.

Reacția este următoarea:

$$NH_4NO_3 + NaOH = NaNO_3 + NH_4OH$$

$$NH_4OH \rightarrow NH_3 + H_2O$$

Azotatul de sodiu și cel de potasiu nu dau această reacție.

Și $(NH_4)_2SO_4$ este o sare care conține în molecula ei azot amoniacal. Presărat pe cărbune încins, degajă fum alb și miros de amoniac, ca și azotatul de amoniu. Soluția de sulfat de amoniu tratată cu hidroxid degajă amoniac, ca în cazul azotatului de amoniu.

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH = Na_2SO_4 + 2NH_4OH$$

$$2NH_4OH \rightarrow 2NH_3 + 2H_2O$$

Scanned with OKEN Scanner

Pentru a deosebi sulfatul de amoniu de azotatul de amoniu se adaugă peste soluția de sulfat de amoniu cîteva picături de soluție de clorură de bariu 2—5%. Precipitatul alb de sulfat de bariu format indică prezența sulfatului de amoniu:

$$(NH_4)_2SO_4 + BaCl_2 = BaSO_4 + 2NH_4Cl$$

Pentru a ne convinge că precipitatul este de sulfat de bariu, se adaugă în aceeași eprubetă acid clorhidric 1% (reactivul 4 *i*). Dacă precipitatul nu se dizolvă, atunci îngrășămîntul este sulfat de amoniu.

Soluția de azotat de amoniu nu dă precipitat cu clorura de bariu, însă poate da o tulbureală, care se dizolvă în cazul în care se adaugă acid.

Ureea $CO(NH_2)_2$ este un îngrășămînt azotat care pe cărbune degajă amoniac; cu hidroxid însă nu degajă amoniac.

Îngrășămintele potasice, spre deosebire de îngrășămintele azotate, nu dau reacții caracteristice pe cărbune încins. Nu ard și nu dau miros caracteristic, comportare prin care pot fi deosebite în mod sigur de îngrășămintele azotate.

Cum se deosebesc aceste îngrășăminte între ele?

Pe de o parte, după aspectul lor exterior, iar pe de altă parte, după reacții chimice.

Azotatul de potasiu KNO_3 este format din cristale mici albe sau roz-roșietice.

Clorura de potasiu KCl se prezintă, de obicei, numai sub formă de cristale mărunte, albe.

Sulfatul de potasiu K_2SO_4 se prezintă sub formă de cristale albe sau galbene.

Sulfatul de potasiu se deosebește ușor de clorura de potasiu și de azotatul de potasiu. Dacă în soluția din eprubetă a fiecărui din aceste îngrășăminte adăugăm cîte 1—2 picături de clorură de bariu 2—5%, atunci, în cazul sulfatului de potasiu, apare un precipitat alb de sulfat de bariu:

$$K_2SO_4 + BaCl_2 = 2KCl + BaSO_4$$

Acest precipitat este insolubil în acid clorhidric 1%. În eprubetele cu soluție de KCl sau KNO_3 prin adăugarea de $BaCl_2$ apare doar o slabă tulbureală.

Pentru a nu se confunda sulfatul de potasiu cu sulfatul de amoniu, care dau precipitat cu clorura de bariu, se mai face reacția cu hidroxid (NaOH sau KOH 8—10%). În acest caz, numai sulfatul de amoniu degajă amoniac.

După ce am deosebit între ele îngrășămintele cristalizate (azotate și potasice), trecem la analiza calitativă a *îngrășămintelor amorfe* de calciu (carbonat de calciu folosit ca amendament) și de fosfor (zgura lui Thomas, superfosfatul, făina de oase etc.) și a cianamidei de calciu.

Se observă comportarea lor față de acidul clorhidric. În acest scop se ia în cîte o eprubetă o cantitate mică din fiecare îngrășămînt, peste care se adaugă cîteva picături de HCl 1%. În cazul în care se produce efervescență, avem sau carbonat de calciu sau zgura lui Thomas.

Scanned with OKEN Scanner

Acestea două se deosebesc între ele prin aceea că zgura lui Thomas are totdeauna o culoare cenușie-închis, iar prin adăugare de acid, o dată cu efervescența, se constată și prezența hidrogenului sulfurat, ceea ce nu are loc în cazul amendamentelor de calciu.

Superfosfatul și făina de oase se deosebesc între ele prin următoarele caracteristici:

Superfosfatul se prezintă ca un praf de culoare albă sau cenușie-deschis, cu miros specific din cauza prezenței unei cantități mici de acizi liberi, mai ales acid fosforic și acid sulfuric. Reacția acidă a acestui îngrășământ se poate pune în evidență prin înroșirea hîrtiei albastre de turnesol introdusă în suspensia de superfosfat dintr-o eprubetă.

Făina de oase este o substanță amorfă de culoare cenușie-deschis, care pe cărbune încins arde, producînd un miros de corn ars caracteristic.

Cianamida de calciu ($CaCN_2$). Cianamida de calciu este un praf negru-albăstrui, care produce efervescență cu acid. Hîrtia roșie de turnesol introdusă într-o eprubetă cu suspensie de cianamidă de calciu se albăstrește, deoarece conține impurități cu reacție alcalină.

E. CULTURI DE PLANTE

1. CULTURI DE PLANTE PE MEDII LICHIDE

Experiența nr. 106

STABILIREA UNOR ELEMENTE MINERALE INDISPENSABILE PLANTELOR

Pentru stabilirea elementelor minerale indispensabile creșterii și dezvoltării plantelor se folosește, pe lîngă alte metode, și metoda sintetică a culturilor de plante pe medii lichide (soluții nutritive).

Una dintre cele mai folosite soluții minerale nutritive este soluția Knop, care favorizează creșterea și dezvoltarea completă a plantelor verzi. Se cunosc și alte soluții nutritive: soluția Sachs, Crone, Pfeffer, Prianișnikov etc.

Toate soluțiile nutritive conțin anioni de PO_4^{---}, NO_3^{-} și SO_4^{--}, precum și cationi de K^+, Ca^{++}, Mg^{++} și Fe^{++}, toți absolut indispensabili plantelor în creșterea și dezvoltarea lor.

Pentru demonstrarea rolului diferitelor elemente minerale în viața plantelor, se folosesc o serie de soluții nutritive Knop, din care se scoate pe rînd cîte un element, toate celelalte fiind prezente.

Variantele experienței sînt: varianta de control (martor, V_1), care conține soluția Knop completă; varianta V_2, care conține soluția Knop lipsită de azot (sarea de azot fiind înlocuită de $CaSO_4$ în cantitate de 1,03 g); varianta V_3, care conține soluția Knop lipsită de fosfor (fosforul este înlocuit cu clorura de potasiu în cantitate de 0,13 g); varianta V_4, alcătuită din soluția Knop fără potasiu (în care KCl se înlocuiește cu

NaCl în cantitate de 0,09 g/l, iar KH_2PO_4 cu NaH_2PO_4, în aceeași cantitate). Experiența poate fi completată cu variante fără Ca, Mg, Fe și o variantă cu apă distilată.

Fiecare variantă se repetă de cel puțin 3 ori, spre a se elimina pe cît posibil variațiile individuale. Varianta-martor (etalon de comparație) conține toate sărurile minerale absolut indispensabile.

Dăm în tabelul 6 compoziția chimică a soluțiilor din cele 4 variante ale experienței.

Tabelul 6

Compoziția chimică a soluțiilor din variantele experienței

Soluții				
completă (V_1)		fără azot (V_2)	fără fosfor (V_3)	fără potasiu (V_4)
$Ca(NO_3)_2$	—1,0 g	$CaSO_4$	$Ca(NO_3)_2$	$Ca(NO_3)_2$
KCl	—0,25 g	KCl	KCl	NaCl
$MgSO_4$	—0,25 g	$MgSO_4$	$MgSO_4$	$MgSO_4$
KH_2PO_4	—0,25	KH_2PO_4	KCl	NaH_2PO_4
Fe_2Cl_6—10%	—cîteva picături	Fe_2Cl_6	Fe_2Cl_6	Fe_2Cl_6

Pregătirea experienței. Culturile de plante în soluții nutritive se fac în vase de sticlă cilindrice sau în borcane obișnuite de 1—3 l, iar pentru plante mai mici în borcane de 500 ml (fig. 82). Borcanele se astupă cu dopuri de plută, tifon sau cu carton subțire (toate parafinate). În dop se fac 3 orificii — unul central, în care se introduce planta. Dacă se taie în dop un sector detașabil pînă la centrul dopului, planta se introduce mai ușor. După așezarea plantei, se pune sectorul la locul lui. În al doilea orificiu se introduce un tub de sticlă, prin care se suflă aer, iar în al treilea orificiu se introduce o baghetă ce folosește pentru susținerea ulterioară a plantei.

Pentru evitarea dezvoltării algelor în mediul de cultură se învelesc borcanele în hîrtie sau pînză neagră, peste care se pune o hîrtie sau pînză albă (care evită supraîncălzirea rădăcinilor). Se recomandă folo-

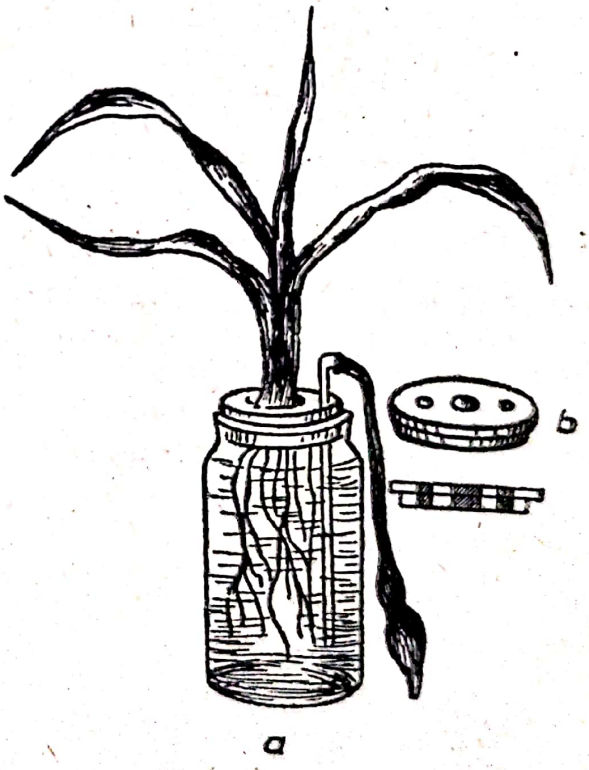


Fig. 82. Culturi de plante în soluții nutritive:
a — vas de cultură în soluții nutritive; *b* — dopul vasului.

sirea semințelor cu slabe rezerve nutritive, pentru ca planta să fie obligată să folosească sărurile minerale date (hrișcă etc.). Se aleg plantule de aceeași mărime. Rădăcinile se introduc cu grijă prin dop, spre a se evita ruperea lor; se recomandă ca sămînța să stea deasupra dopului, iar soluția nutritivă să nu umezească dopul, să fie ceva mai jos de dop, pentru a nu provoca mucegăirea seminței.

Dăm mai jos un exemplu de modul în care se calculează cantitatea de substanță cu care se înlocuiește un anumit element din soluția Knop.

De exemplu, dacă vrem să înlocuim azotul din mediul de cultură, în locul $Ca(NO_3)_2$ se adaugă $CaSO_4 \cdot 2H_2O$, în așa fel ca în mediul de cultură să avem aceeași cantitate de calciu. Pentru aceasta facem următorul raționament:

Dacă în 164 g $Ca(NO_3)_2$ se găsesc 40,04 g Ca
în 1 g $Ca(NO_3)_2$ se vor găsi . . . x g Ca

$$x = \frac{40{,}04 \times 1}{164{,}0} = 0{,}24 \text{ g}$$

Pentru a afla în cîte grame de $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ se găsesc 0,24 g calciu, facem următorul raționament:

40,04 g calciu se găsesc în 172,16 g $CaSO_4 \cdot 2H_2O$
0,24 g calciu se vor găsi în x g $CaSO_4 \cdot 2H_2O$

$$x = \frac{172{,}16 \times 0{,}24}{40{,}04} = 1{,}03 \text{ g}$$

Prin urmare, compoziția mediului de cultură fără azot va fi următoarea:

apă distilată	1 000 ml
$CaSO_4H_2 \cdot 2H_2O$	1,03 g
KH_2PO_4	0,25 g
KCl	0,125 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,25 g
Fe_2Cl_6	0,0125 g

Calcule similare se fac și în cazul scoaterii altor elemente.

Soluțiile nutritive trebuie aerisite zilnic timp de 3—5 minute (suflînd aer cu ajutorul unei pere de cauciuc sau cu un suflător), pentru ca rădăcinile să aibă oxigenul necesar respirației. Apa pierdută prin transpirație se completează zilnic cu apă distilată. În cazul în care

Scanned with OKEN Scanner

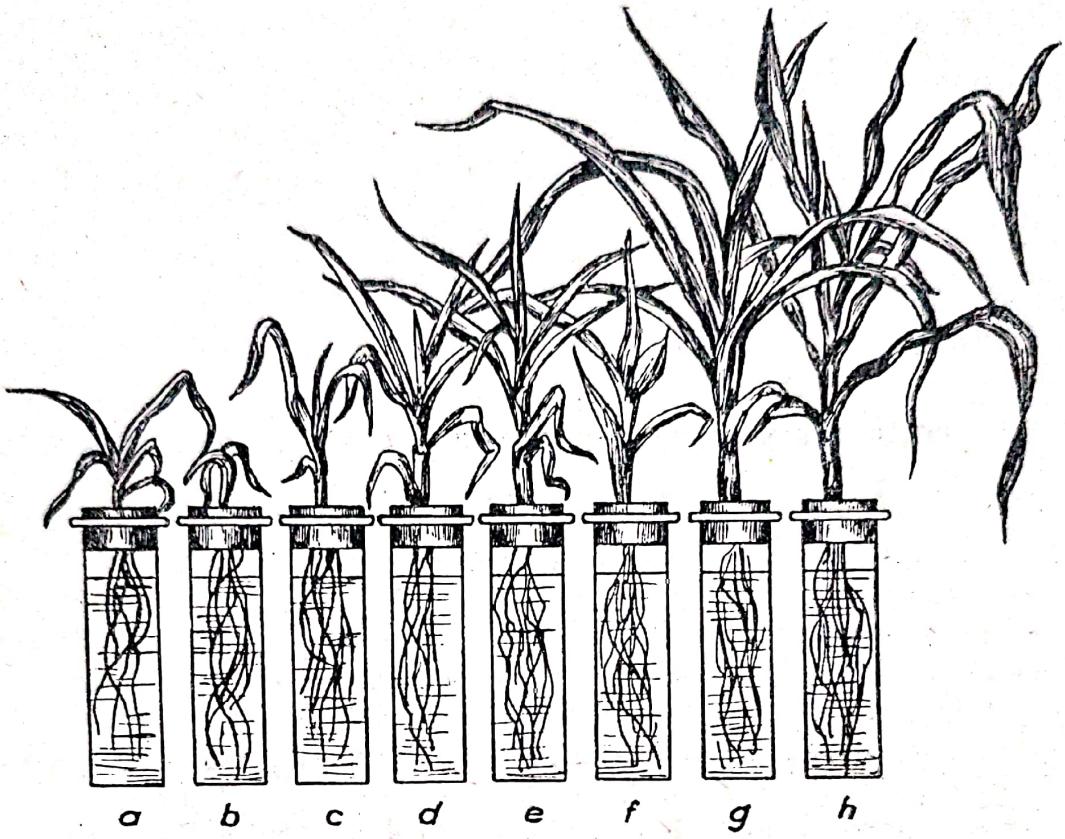


Fig. 83. Plante de porumb crescute pe soluții nutritive în lipsa unor elemente minerale :

a — apă distilată ; *b* — fără potasiu ; *c* — fără calciu ; *d* — fără azot ; *e* — fără fosfor ; *f* — fără magneziu ; *g* — fără fier ; *h* — soluție completă (după Errera și Laurent).

plantele cresc prea mult, se pot lega cu un fir de aţă de bagheta introdusă într-unul din cele 3 orificii ale dopului. Soluțiile nutritive trebuie schimbate la fiecare 5 zile în cazul borcanelor de 1 l sau la fiecare 10 zile în cazul borcanelor de 2—3 l, deoarece plantele, absorbind apă și săruri minerale nutritive, schimbă concentrația și componența soluției inițiale. La aceasta mai contribuie și procesul desorbției. Prin desorbție, rădăcinile plantelor pierd acizi organici, bioxid de carbon, elemente minerale etc. Acizii organici, precum și acidul carbonic format în urma combinării CO_2 cu H_2O contribuie și ei la schimbarea necontenită a reacției mediului.

Din 7 în 7 zile se pot face observații asupra plantelor de experiență, în cadrul cărora se notează înălțimea plantelor, numărul și mărimea frunzelor, numărul fraților, se specifică dacă frunzele sînt de un verde-închis sau sînt mai gălbui și unele date fenologice (data înfloritului, data fructificării etc.). Aspectul plantelor cultivate în lipsa diferitelor elemente este prezentat în figura 83.

Pentru ca plantele să crească şi să se dezvolte bine au nevoie de o anumită reacţie a mediului. Pentru diferite plante, *p*H-ul optim este diferit. Cele mai multe plante cresc în condiţii optime la un *p*H = 7 sau slab acid, sau slab alcalin, pe care trebuie să-l menţinem pe cît posibil tot timpul experienţei. Determinarea *p*H-ului în culturile de apă se poate face după una din metodele descrise la experienţa nr. 99.

Experienţa nr. 107

ROLUL MICROELEMENTELOR BOR ŞI MANGAN ÎN VIAŢA PLANTELOR

Microelementele joacă un rol însemnat în viaţa plantelor. Lipsa lor în mediul nutritiv micşorează recolta. Experienţa se poate face cu soluţie nutritivă Knop. Se cere ca sărurile să fie recristalizate, de asemenea ca apa să fie bidistilată, iar vasele parafinate. Seminţele necesare experienţei se cresc pe hîrtie de filtru în cutii Petri parafinate, pentru a le feri de eventuale urme de microelemente. Se iau plante cu rădăcinuţe de 1—1,5 cm lungime şi se introduc cu grijă, spre a nu se rupe, prin capacul parafinat al vasului cu soluţie nutritivă.

Microelementul bor necesar experienţei se dă sub formă de acid boric H_3BO_3 sau de borax ($Na_2B_4O_7$), iar manganul sub formă de $MnSO_4$.

Variantele experienţei sînt următoarele: varianta 1 (martor) conţine amestecul nutritiv complet fără bor şi Mn; varianta 2 conţine amestecul nutritiv complet la care se mai adaugă 0,3 mg de bor şi 0,4 mg Mn la litru, varianta 3 conţine amestecul nutritiv complet, la care se adaugă numai 0,3 mg de bor la litru, iar varianta 4 conţine soluţia minerală completă la care se adaugă 0,4 mg Mn la litru. Fiecare variantă se repetă de 3 ori.

Vasele se pun la fereastră sau în casa de vegetaţie, iar întreţinerea culturii se face după modul descris la experienţa nr. 106.

Urmărind experienţa, se constată o vizibilă dezvoltare a sistemului radicular faţă de cel al martorului, sub influenţa microelementelor bor şi mangan. Diferenţa se accentuează o dată cu creşterea plantelor. Se constată, de asemenea, că partea aeriană nu prezintă deosebiri mari faţă de martor.

La sfîrşitul experienţei se notează înălţimea părţii aeriene, lungimea sistemului radicular, greutatea proaspătă şi uscată a plantelor din fiecare variantă.

Pe baza datelor culese se ajunge la concluzia că aceste două microelemente au efecte favorabile asupra creşterii plantelor îndeosebi asupra sistemului radicular.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 108

CULTURI DE PLANTE HETEROTROFE PE SOLUȚII MINERALE NUTRITIVE

Plantele heterotrofe au nevoie, ca și plantele autotrofe, de aceleași elemente minerale nutritive pentru a se dezvolta. Spre deosebire de cele autotrofe, ele iau carbonul din substanțe organice gata sintetizate.

Pentru cultura ciupercilor se poate întrebuința lichidul Raulin (1905).

Lichidul Raulin pentru ciuperci:

Zahăr comercial sau candel	70 g
Acid tartric	4 g
Nitrat de amoniu	4 g
Fosfat de amoniu	0,6 g
Carbonat de potasiu . . .	0,6 g
Carbonat de magneziu . . .	0,4 g
Sulfat de amoniu	0,25 g
Sulfat de zinc	0,07 g
Silicat de potasiu	0,07 g
Apă pînă la	1 000 ml

Se toarnă în 4 baloane Erlenmeyer de același volum aproximativ cîte 60—100 ml de lichid Raulin. După aceea se adaugă în al doilea 0,2 de glucoză, în al treilea 0,2 g de acid citric, iar în al patrulea 0,9 g de acid oxalic.

În vasele 1 și 2 se mai adaugă cîteva picături de H_2SO_4 foarte diluat. Se astupă vasele cu dop de vată, se sterilizează la autoclav, la 120°C timp de 10—15 minute, se răcesc și apoi se însămînțează cu *Aspergillus* sau *Penicillium*. Pentru însămînțare se folosește o ansă. Însămînțarea se face astfel: se ia ansa cu mîna dreaptă și se ține în flacăra unui bec pînă se înroșește. După aceea, ținînd balonul Erlenmeyer în mîna stîngă, se scoate dopul de vată cu degetul mic și cel inelar de la mînă dreaptă, trecînd gîtul balonului prin flacără, și se introduce în balon ansa cu spori sau fragmente de miceliu, luate din cultura de ciuperci. Se astupă vasele repede cu dopul de vată, după ce gîtul lor a fost trecut din nou prin flacără. După 7—8 zile se notează observațiile în legătură cu caracterul miceliului (peliculă continuă sau insulițe sporulare, bogată sau slabă) și se măsoară greutatea uscată a lui, trecîndu-l pe hîrtia de filtru cîntărită în prealabil. Se spală miceliul cu apă de 3—5 ori și se usucă apoi la 100—105°C pînă la greutate constantă.

Experiența arată că în balonul 1 nu se dezvoltă spori, iar în balonul 2, în care este cea mai mare cantitate de carbon, se dezvoltă miceliul cel mai frumos, care fructifică chiar. În balonul 3, ciuperca se dezvoltă mai puțin bine decît în vasul 2, iar în balonul 4 se observă cea mai slabă dezvoltare.

Scanned with OKEN Scanner

2. CULTURI DE PLANTE PE MEDII SOLIDE

Experienţa nr. 109

STUDIUL INFLUENŢEI ÎNGRĂŞĂMINTELOR N.P.K. ASUPRA PLANTELOR CRESCUTE PE PĂMÎNT DE GRĂDINĂ

Cu ajutorul acestor experienţe se poate urmări influenţa îngrăşămintelor N.P.K. (de diferite concentraţii, date separat şi în amestec) asupra creşterii şi dezvoltării plantelor (grîu, orz, porumb etc.).

Îngrăşămintele întrebuinţate sînt: NH_4NO_3 pentru azot, KCl pentru potasiu şi superfosfatul pentru fosfor.

Experienţa se face în următoarele variante, fiecare în cîte trei repetiţii:

Varianta 1 (martor), cu sol de grădină.
Varianta 2, cu sol de grădină + NH_4NO_3 în cantitate de 1,5 g la 1 kg de sol.
Varianta 3, cu sol de grădină + superfosfat în cantitate de 1,5 g la 1 kg de sol.
Varianta 4, cu sol de grădină + KCl în cantitate de 0,5 g la 1 kg de sol.
Varianta 5, cu sol de grădină + îngrăşăminte în amestec (1 g NH_4NO_3, 0,5 g KCl şi 0,7 g de superfosfat la 1 kg de sol).

Experienţa se face în ghivece de pămînt numerotate şi cîntărite în prealabil. Orificiul ghivecelor se acoperă cu cîte un mic ciob, care permite scurgerea apei, împiedicînd însă pierderea solului din el. În fiecare ghiveci se pun 5 kg de pămînt. Se iau totodată două probe din solul cu care se lucrează, una pentru determinarea umidităţii la începutul experienţei, şi a doua pentru determinarea capacităţii maxime pentru apă (v. experienţele nr. 53 şi 55). Aceste date sînt necesare pentru calcularea cantităţii de apă ce trebuie să se adauge pentru a se menţine umiditatea de 60—80% din capacitatea maximă a solului în tot timpul experienţei. După ce se adaugă în ghivece cantitatea de apă calculată pentru cele 5 kg de sol, se cîntăresc ghivecele (cu sol şi apa adăugată), notîndu-se greutatea corespunzătoare fiecărui ghiveci în parte. Plantele diferitelor variante pierd zilnic prin transpiraţie cantităţi inegale de apă, din care cauză şi solul acestor ghivece se usucă diferit. Pentru a şti cîtă apă trebuie să se adauge zilnic, pentru a se menţine umiditatea stabilită, se pun pe rînd ghivecele pe cîntar şi se adaugă în fiecare din ele atîta apă pînă se ajunge la greutatea indicată pe caiet în dreptul ghiveciului respectiv (v. experienţa nr. 76).

În ghivecele-martor (V_1) se seamănă 25 cariopse de grîu la adîncimea de 1—1,5 cm. Se nivelează pămîntul după semănat şi se presară peste el un strat subţire de nisip, pentru a se împiedica formarea crustei impermeabile care asfixiază plantele.

În toate celelalte ghivece se pun în fiecare, pe lîngă cele 5 kg de sol, şi sărurile respective, astfel: în cazul variantei 2, adăugăm

1,5 g NH_4NO_3 la 1 kg de sol (pentru 5 kg vom adăuga $1,5 \times 5 = 7,5$ g, pe care le dizolvăm în 200 ml de apă și le amestecăm cu solul scos pe o tavă în acest scop). Se pune apoi pămîntul amestecat cu îngrășămîntul dat în ghiveci, se nivelează fără să se îndese și se seamănă 25 cariopse, exact la fel ca în cazul variantei-martor.

Procedăm la fel cu toate celelalte concentrații ale diferitelor variante, așezînd apoi ghivecele în aceleași condiții de temperatură, luminozitate și umiditate.

După 3—4 zile se notează puterea de străbatere a solului de către plante, iar după 7—10 zile, facultatea lor germinativă (numărul total de plante răsărite). După răsărirea plantelor, se răresc, lăsînd pentru experiență cîte 10—15 plante în fiecare ghiveci, dintre cele mai uniforme. La fiecare decadă se fac observații biometrice și fenologice în legătură cu înălțimea plantelor, numărul fraților, culoarea frunzelor, data înspicării și înfloririi, lungimea și grosimea spicului, numărul cariopselor dintr-un spic și greutatea lor. Valoarea medie a măsurătorilor la cele trei repetiții din fiecare variantă se trece într-un tabel. La sfîrșitul experienței, după 3—4 luni, se adaugă în tabel greutatea medie a recoltei de boabe, media volumului global al părții aeriene și media volumului global al rădăcinilor.

Pentru ca rădăcinile din ghiveci să fie scoase fără să se rupă, se înclină ghiveciul și se trece peste pămîntul din el un curent slab de apă, care spală tot pămîntul.

Volumul rădăcinilor și al părții aeriene se află prin scufundarea lor pe rînd într-un cilindru gradat care conține apă pînă la o diviziune oarecare, pe care o notăm. Prin scufundarea lor, nivelul lichidului se ridică. Se face diferența între cele două citiri, iar rezultatul reprezintă volumul căutat.

În tabel se poate trece și greutatea uscată a organelor, care se determină după modul descris la experiența nr. 47.

În timpul experienței se notează temperatura aerului (dimineața, la prînz și seara), numărul de zile ploioase și cantitatea de apă căzută.

Experiența este intuitivă, ușor de executat și demonstrează eficiența îngrășămintelor minerale date singure și în amestec asupra creșterii și dezvoltării plantelor. Amestecul celor 3 îngrășăminte (NPK) dă un spor de recoltă și favorizează creșterea armonioasă a plantelor (raportul rădăcină — tulpină).

Din datele experienței se desprind următoarele concluzii: azotul sporește masa vegetativă, potasiul stimulează procesele de creștere care se constată din datele referitoare la lungimea plantelor, energia înspicării și greutatea spicului. Fosforul grăbește înspicarea și mărește greutatea spicului.

Experiența se poate face și cu alte săruri, în cîmp, pe parcele de 1 m^2, distanțate între ele la 0,5 m. Cantitatea de îngrășăminte dată pentru suprafața de 1 m^2 este următoarea: $NaNO_3$ 15 g, superfosfat 30 g, KCl 20 g. Fiecare parcelă are 5 brazde orientate de la apus la

Scanned with OKEN Scanner

răsărit, pentru a primi aceeași cantitate de lumină. Pe fiecare brazdă se seamănă 20 de boabe cu o bună energie și facultate germinativă, la adîncimea de 1,5—2 cm. Pentru această experiență se fac observații, în decursul perioadei de vegetație, ca și pentru experiența din ghivece.

Experiența nr. 110

CULTURI DE PLANTE PE NISIP CU ADĂUGARE DE CENUȘĂ

Nisipul necesar experienței se usucă, se cerne printr-o sită de 0,2—0,5 mm și se calcinează la 400°C. După aceea, se spală cu apă și apoi cu acid clorhidric concentrat pentru înlăturarea atît a sărurilor solubile în apă cît și a celor solubile în acid. Excesul de acid se îndepărtează prin spălare repetată la început cu apă și apoi cu apă distilată, pînă ce aceasta nu mai dă reacția acidă. Nisipul se introduce în ghivece, în cantitate de 2 kg la fiecare ghiveci.

Cenușa plantelor este un îngrășămînt complex, deoarece conține macro, micro și ultramicroelemente, necesare creșterii și dezvoltării plantelor; ea nu conține însă azot (elementul plastic, absolut indispensabil tuturor plantelor), care se pierde în timpul arderii. Din acest motiv, azotul trebuie adăugat cenușii sub forma unei sări de azot.

Experiența se face în următoarele variante, fiecare în 3 repetiții:

Varianta 1 (martor) conține nisip + 100 ml apă distilată.
Varianta 2: nisip + 2 g cenușă + 100 ml apă distilată.
Varianta 3: nisip + 2 g cenușă + 0,492 g $Ca(NO_3)_2$ + 100 ml apă distilată.

După pregătirea ghivecelor se seamănă în fiecare 10—15 boabe (grîu, orz) și se urmărește zilnic experiența, adăugînd la toate variantele aceeași cantitate de apă distilată atunci cînd este necesar.

După 2—2½ luni, se constată că plantele variantelor 2 și 3 se dezvoltă mai bine decît plantele-martor, rămase firave în lipsa elementelor minerale indispensabile din nisipul spălat. Plantele variantei 3, care au avut la dispoziție atît elementele minerale din cenușă cît și azotul necesar, au dezvoltarea cea mai viguroasă.

Experiența nr. 111

CULTURI DE ALGE VERZI PE MEDII SOLIDE, CU AMESTEC NUTRITIV COMPLET ȘI ÎN LIPSA UNOR ELEMENTE

Se iau 20 de eprubete și se pun în fiecare 0,2 g de agar uscat și mărunțit. Se lucrează cu 5 variante în 4 repetiții.

Varianta 1 conține 0,2 g agar + 20 ml soluție nutritivă Knop completă.
Varianta 2: 0,2 g agar + 20 ml soluție nutritivă Knop fără azot.

Scanned with OKEN Scanner

Varianta 3: 0,2 g agar + 20 ml soluție nutritivă Knop fără fosfor.
Varianta 4: 0,2 g agar + 20 ml soluție nutritivă Knop fără potasiu.
Varianta 5: 0,2 g agar + 20 ml soluție nutritivă Knop fără magneziu.

Cei 20 ml de soluție Knop se introduc în eprubetă fără a uda pereții (pentru pregătirea soluțiilor Knop, v. experiența nr. 106). Se astupă eprubetele cu dopuri de vată și se leagă la un loc cele 4 eprubete ale unei variante, după care se etichetează și se sterilizează în autoclav la 120°C timp de 15 minute sau la 100°C.

După sterilizare, eprubetele se așază în poziție oblică, pentru a se obține o suprafață mai mare de însămînțare. Pe fiecare eprubetă a unei variante se scrie varianta, numărul repetiției și data însămînțării.

După solidificarea mediului se ia puțin din cultura de alge cu o ansă trecută în prealabil prin flacără și se întinde pe suprafața mediului. Este necesar ca, înainte de scoaterea dopului eprubetelor, gura lor să fie trecută prin flacără; această operație se repetă și la închiderea lor după însămînțare.

După însămînțare se pun eprubetele în stativ, la un geam situat spre nord. Inițial, eprubetele se așază cu suprafața înclinată a agarului spre interiorul camerei, iar după 2 zile se întorc astfel ca suprafața mediului să fie îndreptată spre geam. Se observă creșterea algelor. Toate observațiile se trec într-un tabel pentru fiecare variantă în parte.

F. ABSORBȚIA ELEMENTELOR MINERALE DE CĂTRE PLANTE

Experiența nr. 112

ABSORBȚIA IONULUI NH_4^+

În principiu, metoda constă în determinarea diferenței de concentrație a ionului NH_4^+ dintr-o sare de amoniu oarecare, înainte și după ținerea plantei într-o soluție a acestei sări.

Determinarea ionului NH_4^+ se face cu ajutorul unei scări colorimetrice cu reactiv Nessler.

Rădăcinile plantei se introduc 2—3 ore într-un vas, în care s-au pus în prealabil 200 ml de soluție NH_4Cl.

Pentru determinarea ionului NH_4^+ din soluție, cu 30 minute înainte de terminarea experienței se pregătește o scară etalon. Pentru aceasta se folosește o soluție de NH_4Cl 0,7405 g la litru, din care se iau 20 ml și se diluează pînă la 500 ml. Această soluție conține la 1 ml 0,1 mg NH_4. Se iau 10 eprubete curate și cu același diametru și se introduc în ele 1 ml, 2 ml, 3 ml și așa mai departe, pînă la 10 ml din soluția de NH_4Cl

Scanned with OKEN Scanner

pregătită. Se completează apoi conținutul fiecărei eprubete cu apă distilată, în așa fel ca volumul total să fie de 10 ml, și se adaugă în fiecare eprubetă 0,4 ml de reactiv Nessler (reactivul 56).

În acest fel se obțin colorații galbene de nuanțe diferite, a căror intensitate este proporțională cu concentrația cationului NH_4^+.

După scoaterea plantei din soluția de NH_4Cl se iau din aceasta 5 ml într-o eprubetă (nr. 1) cu diametrul egal cu cel al eprubetelor folosite la pregătirea scării colorimetrice, se adaugă 5 ml de apă distilată și 0,4 reactiv Nessler.

Paralel cu aceasta se iau din soluția inițială (soluția de NH_4Cl înainte de introducerea plantei) 5 ml în altă eprubetă (nr. 2), peste care se adaugă tot 5 ml de apă distilată și 0,4 ml reactiv Nessler.

După 15 minute se compară colorațiile obținute cu scara colorimetrică.

Pentru calcularea cantității de ioni NH_4^+ din eprubetele nr. 1 și nr. 2 (cu soluție inițială și finală) se aplică formula:

$$\text{mg } NH_4 = \frac{a \times 200}{5},$$

în care:

a este cantitatea de ioni NH_4, în mg, ce se găsește în eprubeta din seria etalon, care are aceeași intensitate de culoare cu soluția inițială sau finală;

200 — volumul soluției în care au fost scufundate rădăcinile plantei;

5 — volumul de soluție inițială și finală luată la colorimetrare, în ml.

Cantitatea de ioni NH_4 absorbiți de plantă se calculează făcînd diferența între valoarea găsită în soluția inițială și cea de la sfîrșitul experienței.

Experiența nr. 113

DETERMINAREA ABSORBȚIEI IONULUI PO_4^{---} CU P^{32}

Metoda izotopilor radioactivi are aplicații din ce în ce mai mari în biologie, în vederea cunoașterii diferitelor procese fiziologice (absorbția substanțelor, conducerea lor etc.).

Se pregătesc soluții de diferite concentrații procentuale dintr-o soluție de Na_2HPO_4 cu P^{32}, cărora li se determină radioactivitatea la începutul experienței.

Introducem rădăcinile plantelor în aceste soluții timp de 3—4 ore, acoperind totul cu un clopot de sticlă, prevăzut cu un dispozitiv pentru aerisire. După acest interval de timp se măsoară din nou radioactivi-

tatea soluțiilor, măsurîndu-se și volumul lor. Se scot apoi plantele și se taie tulpina în fragmente de 3—5 cm; frunzele se iau pe etaje, iar rădăcinile separat. Se triturează probele fin, pe o placă de plexiglas sau de sticlă, pînă la consistența unei paste și se trec în cupele metalice de aluminiu cu greutatea de circa 1,2 g și cu diametrul de 2,5 cm. Se cîntăresc apoi cu totul la balanța de torsiune și li se determină radioactivitatea cu contorul pentru radiații β. Astfel se constată cantitatea de sare radioactivă absorbită, localizarea, precum și viteza ei de circulație.

Rezultatele se dau în număr de impulsuri pe minut, la unitatea de greutate.

Măsurile de protecție care trebuie respectate sînt expuse la experiența nr. 142.

Experiența nr. 114

ABSORBȚIA SĂRURILOR MINERALE INSOLUBILE DE CĂTRE RĂDĂCINI

Rădăcinile plantelor, precum și numeroasele microorganisme din sol secretă în mod normal acizi organici (acid malic, lactic etc.), care creează o reacție acidă la suprafața rădăcinilor. La acizii organici amintiți se adaugă și acidul carbonic rezultat din combinarea CO_2 provenit din respirație sau fermentații cu apa din sol ($CO_2 + H_2O = H_2CO_3$). Cu ajutorul acestor acizi, rădăcinile solubilizează sărurile insolubile din sol, făcîndu-le accesibile.

1) *Punerea în evidență a secreției de acizi organici de către rădăcini. a)* Se ia o cutie Petri pe fundul căreia se așază una lîngă alta fîșii de hîrtie albastră de turnesol, umectate cu apă, peste care se pun rădăcinuțele a 1—2 plantule (grîu, porumb etc.) proaspete, astfel încît să atingă bine hîrtia de turnesol. Se acoperă cutia Petri cu capacul. După 12—24 ore se constată înroșirea hîrtiei de turnesol în dreptul rădăcinuțelor. Dacă se ridică plantulele, urma rădăcinilor rămîne imprimată în roșu pe hîrtia albastră de turnesol.

b) Se introduce o rădăcinuță proaspătă de *Zea mays* sau de altă plantulă într-o eprubetă ce conține o soluție alcalină diluată, colorată slab cu fenolftaleină (reactivul 33). După un interval de timp relativ scurt, ½—1 oră, se observă decolorarea treptată a soluției, începînd cu porțiunea din jurul rădăcinilor, datorită acizilor organici eliminați, care schimbă reacția alcalină inițială a mediului în reacție acidă, în care fenolftaleina este incoloră.

2) *Fenomenul de coroziune. Experiența lui J. Sachs.* Se pune într-un ghiveci nisip calcinat, iar deasupra lui se așază o placă lustruită de marmură, înclinată la 45°.

Pe suprafața plăcii se pun semințe îmbibate cu apă (12—24 ore) și se acoperă cu nisip. Se stropesc zilnic pentru ca să germineze și să crească repede.

După 2 luni, scoţînd şi spălînd placa de marmură din ghiveci, se constată prezenţa a numeroase urme fine ale rădăcinilor ce au crescut la suprafaţa ei şi care au solubilizat, cu ajutorul acizilor secretaţi, carbonatul de calciu, insolubil, după ecuaţia:

$$CaCO_3 + H_2CO_3 = Ca(HCO_3)_2$$

Fenomenul de coroziune permite solubilizarea şi a altor săruri insolubile (a fosfaţilor, silicaţilor etc.), făcîndu-le astfel accesibile plantelor, care au absolută nevoie de ele în nutriţia lor minerală.

Experienţa nr. 115

ABSORBŢIA SĂRURILOR MINERALE PRIN FRUNZE ŞI PRIN PĂRŢILE TINERE ALE PLANTELOR

Nutriţia extraradiculară (suplimentară) ajută nutriţia radiculară, fără s-o poată însă înlocui.

a) Se iau 2 muşcate, puse fiecare sub cîte un clopot de sticlă, una în atmosferă umedă (pereţii clopotului se udă cu apă) iar a doua în atmosferă uscată. Picăm cu pipeta cîte o picătură de soluţie de KNO_3 1% pe frunzele ambelor muşcate. În primul caz, picătura este absorbită sub ochii cercetătorului, iar în al doilea, picătura nu se absoarbe sau se absoarbe foarte slab.

b) Se stropesc fin (cu un pulverizator) frunzele unor plante de muşcată, porumb, floarea-soarelui cu soluţii minerale cu macroelemente (KNO_3, NH_4NO_3 în concentraţie de 0,1—0,5 g%) sau cu microelemente ($MnSO_4$ 0,5 mg%, $CuSO_4$ 5 mg% etc.), date singure şi în amestec, iar frunzele-martor se stropesc cu apă de conductă. În timpul pulverizării se acoperă solul din ghiveci cu o hîrtie, pentru a se împiedica eventuala pătrundere a soluţiilor în sol.

Se măsoară lungimea şi lăţimea cîtorva frunze marcate la fiecare plantă la începutul experienţei şi după 1—2 săptămîni. Făcînd diferenţa între cele 2 măsurători, se află cu cît au crescut frunzele diferitelor variante în lungime şi lăţime. Trecem datele într-un tabel spre a putea trage concluziile necesare.

Măsurătorile dovedesc că soluţiile minerale cu care s-au stropit plantele favorizează creşterea suprafeţei foliare faţă de frunzele-martor stropite cu apă.

c) Experienţa se face cu frunze, organe ce pot absorbi apa şi sărurile minerale datorită structurii lor, precum şi suprafeţei lor mari. N. Zamfirescu a lucrat cu soluţii diluate şi acidulate de citrat feric 1 : 30 000 sau de sulfat feric 1 : 20 000.

Modul de lucru. Se iau frunze foarte tinere de *Zea mays*, *Hordeum vulgare*, *Heracleum sphondylium*, slab turgescente, şi după ce li se

astupă suprafața de secțiune a pețiolurilor cu mastic (amestec de ceară de albine, colofoniu și unt de cacao) se introduc cu vîrful în jos (pețiolul rămînînd afară) timp de 3—10 ore, în soluție de citrat feric sau de sulfat feric. În acest interval de timp, sărurile pătrund pînă la vase, fixîndu-se în anumite locuri. Se scot frunzele, se spală de excesul de reactiv de pe suprafața lor și se fac secțiuni.

Prezența fierului în țesuturi este pusă în evidență fie cu ajutorul ferocianurii de potasiu, cu care dă un precipiat albastru, fie cu sulfocianura de potasiu, cu care dă o culoare roșie de sulfocianură ferică (v. experiența nr. 82).

Se recomandă să se verifice totdeauna și gradul de vitalitate al celulelor, fie prin metoda plasmolizei, fie prin aceea a coloranților vitali (cu albastru de metilen sau cu roșu neutru), deoarece se urmărește pătrunderea diferitelor săruri în celulele vii.

Experiența arată că soluțiile minerale nu străbat în frunze pe toată suprafața lor, ci mai ales prin celulele epidermice din dreptul nervurilor unde cuticula este mai permeabilă (în cazul dicotiledonatelor) sau prin anume porțiuni din suprafața frunzei formate din grupe mai mari sau mai mici de celule așezate din loc în loc (la monocotiledonate, ca și la plante acvatice). Pătrunderea prin stomate se face numai în cazul în care ele sînt golite de aer (rar).

G. MICROORGANISME FIXATOARE DE AZOT

Experiența nr. 116

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A BACTERIILOR DIN NODOZITĂȚI

Pentru a pune în evidență bacteriile fixatoare de N_2 din rădăcini se aleg rădăcini de leguminoase (fasole, lupin, trifoi) bogate în nodozități. Nodozitățile cu care se lucrează se spală cu sublimat corosiv ($HgCl_2$) 2‰ și se trec în alcool un timp scurt, pentru înlăturarea sublimatului. După aceea, se strivește cu acul spatulat nodozitatea pe lamă. Îndepărtăm țesutul nodozității astfel ca pe lamă să rămînă numai sucul rezultat prin presare. Acoperim cu o lamelă și observăm la microscop numeroase bacterii de *Rhizobium leguminosarum* mici ovoide, într-o necontenită mișcare. În nodozitățile mature se pot găsi bacterii degenerate, hipertrofiate (datorită unei hrăniri abundente) avînd forma de x, y (fig. 84).

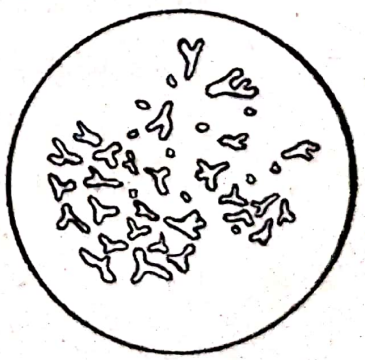


Fig. 84. Forme bacteroide din nodozități (după Skazkin).

Metoda Ziehl de colorare a bacteriilor din nodozități. Se ia pe lamă cu un ac spatulat

sterilizat țesut bacteroid care se întinde subțire și uniform. După aceea se usucă, prin ținerea preparatului la o oarecare distanță deasupra flăcării unui bec Bunsen. După uscare se tratează cu o picătură de reactiv Ziehl (reactivul 58), timp de 2—3 minute, și apoi se decolorează cu HCl (1 parte la 2 părți apă).

Experiența nr. 117

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A BACTERIEI CLOSTRIDIUM PASTEURIANUM

Clostridium pasteurianum este o bacterie anaerobă fixatoare de N_2 care abundă în sol.

Pentru observarea dezvoltării și activității vitale a bacteriei *Clostridium pasteurianum* se folosește un mediu cu următoarea compoziție:

Glucoză ($C_6H_{12}O_6$) 20 g
Fosfat acid de potasiu (K_2HPO_4) 1 g
Sulfat de magneziu ($MgSO_4$) 0,5 g
Clorură de sodiu (NaCl) 0,5 g
Sulfat de fier ($FeSO_4$) urme
Sulfat de mangan ($MnSO_4$) urme
Apă distilată 1 000 ml

Se împarte mediul în baloane cu fund plat, în fiecare cîte 100 ml, și se adaugă aproximativ 2 g $CaCO_3$ și foarte puțin pămînt de grădină (un vîrf de spatulă), lăsîndu-se în termostat la 25—30°C. După cîteva zile, suprafața lichidului se acoperă cu o membrană de bacterii aerobe de *Azotobacter*, iar la fundul balonului începe o fermentație butirică datorită dezvoltării bacteriei *Clostridium* cu puternică degajare de gaze.

Experiența nr. 118

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A BACTERIEI AZOTOBACTER CHROOCOCCUM

Azotobacter chroococcum este o altă bacterie fixatoare de N_2 (aerobă). Mediul de cultură este lipsit de săruri azotate și are următoarea compoziție:

Manită ($C_6H_{12}O_6$) 20 g
Fosfat acid de potasiu (K_2HPO_4) 0,2 g
Carbonat de calciu ($CaCO_3$) 5,0 g
Apă de robinet 1 000 ml

Manita se poate înlocui cu zahăr, glicerină, dextrină, săruri ale acizilor organici. Se toarnă 30 ml de mediu într-un balon Erlenmeyer

Scanned with OKEN Scanner

(de 100 ml) și se însămînțează cu pămînt gras de grădină. După 7—10 zile, pe suprafața lichidului se formează o peliculă inițial de culoare cenușie și apoi brună. Din peliculă se ia o porțiune cu ansa și se observă la microscop. Se văd celule mari, rotunde de *Azotobacter*, acoperite, de o capsulă mucilaginoasă. Adeseori sînt asociate cîte 2 celule de *Azotobacter*.

Experiența nr. 119

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A BACTERIEI AZOTOBACTER ÎN SOL

Se umezește, mojarîndu-se bine, o cantitate de 100 g de sol cu apă de conductă pînă se obține o pastă de oarecare consistență, care se pune în cutii Petri, netezindu-se suprafața cu o spatulă sau cu o lamă. Se pun cutiile Petri la termostat (25—28°C) fără capac. Pentru ca să ferim pămîntul de uscare se țin cutiile Petri în cristalizoare pe fundul cărora se pune apă. Adăugăm solului una din substanțele organice cu carbon (5 g amidon la 100 g sol, 2 g piruvat de sodiu la 100 g sol, manită, glucoză).

În scurt timp, pe suprafața pămîntului apar multe colonii de *Azotobacter* cenușii, mici și lucioase.

BIBLIOGRAFIE

1. Anikiev, V. V., Obuhova, G. A., Skazkin, F. A., Cijevskaia, Z. A., *Letnie prakticeskie zaneatiia po fiziologhii rastenii*, Moskva, 1957.
2. Avdonin, N. S., *Îngrășarea suplimentară a plantelor*, București, 1955.
3. Boysen, Jensen, *Die Elemente der Pflanzenphysiologie*, Jena, 1939.
4. Blagovescenschi, A., *Bazele biochimice ale procesului de evoluție la plante*, București, 1953.
5. Brauner, L., *Das kleine Pflanzenphysiologische Praktikum*, Jena, 1929.
6. Brugovitzky, E., *Növényélettani vizsgálatok*, București, 1956.
7. Chiriță, L., *Pedologie generală*, București, 1955.
8. Ciobanu, I., *Curs de botanică*, Cluj, 1953.
9. Davidescu, D., *Agrochimia*, București, 1963.
10. Detmer, W., *Manuel technique de physiologie végétale*, Paris, 1890.
11. Dop, P. et Gautier, *Manuel de technique botanique*, Paris, 1928.
12. Fedorov, M. V., *Rukovodstvo k prakticeskim zaniatiam po microbiologhii*, Moskva, 1951.
13. Ionescu Sisești, *Agrotehnica*, București, 1958.
14. * * * *Manualul chimistului*, vol. I, București, 1948.
15. * * * *Manualul inginerului agronom*, vol. I, București, 1952.
16. Maximov, N. A., *Fiziologia plantelor*, București, 1951.
17. Molisch, H., *Microchemie der Pflanze*, Jena, 1928.
18. Moisescu, N., *Fiziologia vegetală experimentală*, București, 1907.

Scanned with OKEN Scanner

19. Peterburgski, A. V., *Manual de lucrări practice la chimie agricolă*, Bucureşti, 1954.
20. Pfeffer, W., *Pflanzenphysiologie*, Leipzig, 1909.
21. Pop, E., Péterfi, St., Sălăgeanu, N., Chirilei, H., *Manual de fiziologia plantelor*, vol. I, Bucureşti, 1957.
22. Ruhland, W., *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, vol. IV, Berlin — Göttingen — Heidelberg, 1958.
23. Strasburger, E., *Das Botanische Praktikum*, Jena, 1913.
24. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, 1953.
25. Teaci, D., Şerbănescu, I., *Cercetarea şi cartarea solului*, Bucureşti, 1954.
26. Scetinin, L. L., Butenko, V. A., *Kolorimitriceskii metod opredelenia obşego azota v pocive i rasteniah*, Pocivovedenie, vol. 8, Moskva, 1957.
27. Verhovskaia, N. A., Gabelova, E. G., Sinovieva, E. G., Kuzin, A. M., etc., *Metod mecenih atomov v biologhii*, Moskva, 1955.
28. Zamfirescu, N., *Cercetări asupra absorbţiunii apei prin organele aeriene ale plantelor*, Buletinul Ministerului Agriculturii şi Domeniilor, vol. III, nr. 5—6, 1931.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL IV

CĂILE DE DIFUZIUNE A GAZELOR ÎN PLANTE

de lector FLORICA SOARE

O proprietate a gazelor este amestecarea lor prin difuziune atunci cînd vin în contact direct, fenomen ce decurge cu atît mai repede cu cît diferența dintre densitățile lor este mai mare. Cînd două gaze sînt separate printr-un perete poros, ele străbat peretele și difuzează unul în altul. Gazul cu densitate mai mare difuzează mai încet decît cel cu densitate mai mică. Graham a stabilit legea difuziunii gazelor: „Viteza de difuziune a unui gaz care traversează un perete poros este invers proporțională cu rădăcina pătrată a densității sale: $V = \frac{1}{\sqrt{d}}$".

Experiența nr. 120

DIFUZIUNEA CO_2 PRIN PEREȚI POROȘI

Se ia un tub de porțelan poros prin dopul căruia trece capătul unui manometru ce conține un lichid colorat. Tubul poros se așază într-un vas extern de sticlă, unde se introduce CO_2 pregătit la un aparat Kipp. Inițial, în tubul de porțelan poros se află aer. Prezența CO_2 din-afară face ca aceste două gaze să difuzeze unul în altul. Aerul, avînd densitate mai mică decît a CO_2, va ieși mai repede în afară, iar CO_2 va pătrunde mai greu în tub, ca urmare a densității sale mai mari. Din această cauză, la un moment dat în tubul de porțelan poros se produce o rarefiere, ceea ce face ca lichidul din manometru să tindă a intra în tub (fig. 85, *a*).

Experiența nr. 121

DIFUZIUNEA HIDROGENULUI PRIN PEREȚI POROȘI

Se ia un tub de porțelan poros deschis numai la un capăt. Această deschidere se astupă cu un dop prin care trece un tub mai subțire de sticlă. Capătul tubului de sticlă pătrunde prin gîtul unui flacon așezat mai jos. Flaconul mai prezintă o a doua deschidere superioară, astupată cu un dop de cauciuc prin care trece un alt tub subțire de sticlă. Capătul extern al acestui tub este curbat și efilat, iar capătul inferior pătrunde aproape de baza flaconului. Înainte de montarea experienței se toarnă apă în flacon cam jumătate din înălțimea lui, cu grija ca tubul de sticlă ce vine de la tubul de porțelan să nu intre în apă. Tubul de porțelan poros se așază sub un clopot de sticlă. De la un aparat Kipp se aduce hidrogen sub clopot. În tubul de porțelan poros

Scanned with OKEN Scanner

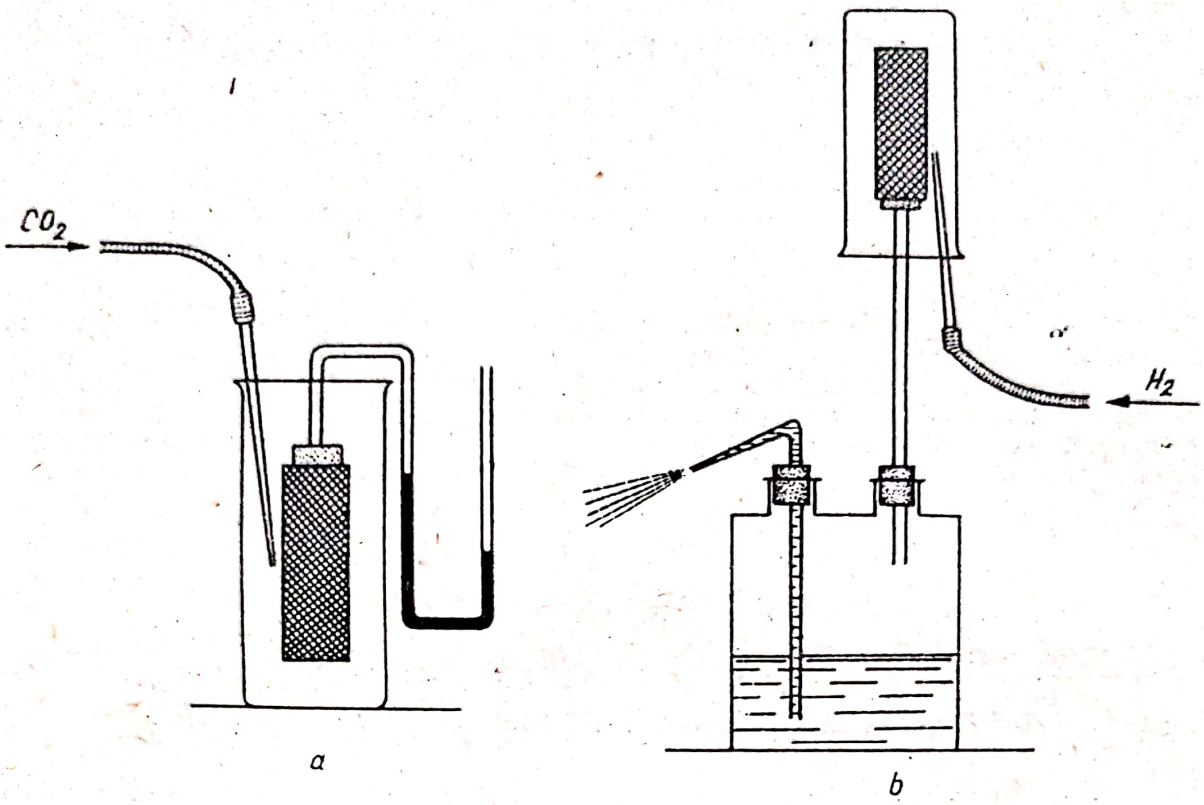


Fig. 85. Difuziunea gazelor prin pereţi poroşi :
a — difuziunea bioxidului de carbon ; *b* — difuziunea hidrogenului.

se află aer. Aceste două gaze vor difuza unul în altul, străbătînd peretele poros. Deoarece hidrogenul este un gaz cu densitate mai mică decît aerul, va pătrunde mai repede în tub decît va avea posibilitate aerul să iasă. De aceea, în tub se va crea o suprapresiune, care se va exercita asupra apei din flaconul de la bază, făcînd-o să ţîşnească în afară sub formă de coloană prin tubul efilat (fig. 85, *b*).

Experienţa nr. 122

DIFUZIUNEA GAZELOR PRIN FRUNZE

Schimbul de gaze între plantă şi atmosferă se face prin porii stomatelor de pe frunze şi prin lenticelele existente pe tulpina plantelor lemnoase. Calea principală de pătrundere şi ieşire a aerului (a CO_2 şi O_2) în frunze este prin stomate. Stomatele prezintă orificii foarte mici, osteolele, care se pot asemăna cu porii peretelui de porţelan poros. După legea lui Stefan, viteza de difuziune prin pori depinde de dimensiunile porilor. Cînd orificiile sînt mici, difuziunea are loc proporţional cu raza, iar cînd dimensiunile porilor sînt foarte mari, difuziunea are loc proporţional cu suprafaţa.

Într-un tub cilindric de sticlă se fixează la un capăt cu un dop de cauciuc peţiolul unei frunze de *Ficus elastica*. Frunza nu trebuie să pre-

zinte pe suprafaţa ei nici un traumatism. Se toarnă apă pînă la 2/3 din capacitatea tubului. La capătul celălalt al tubului, tot cu ajutorul unui dop de cauciuc, se fixează un tub îngust de sticlă, prin care dispozitivul se pune în legătură cu trompa de vid. Făcîndu-se vid în tub, aerul din atmosferă va pătrunde prin stomate, va străbate spaţiile aerifere şi va ieşi prin suprafaţa de secţiune a peţiolului, sub formă de şiruri de bule gazoase, care vor străbate apa (fig. 86). Dacă cu 2—3 ore înainte de experimentare se unge frunza pe ambele părţi cu un strat de ulei, substanţa grasă va astupa osteolele stomatelor, iar schimbul gazos nu va avea loc.

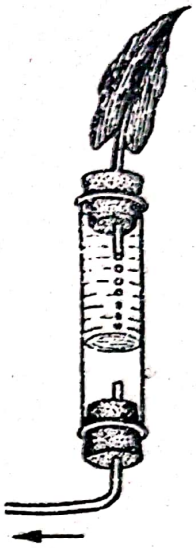


Fig. 86. Difuziunea gazelor prin frunze.

Experienţa nr. 123

NUMĂRAREA STOMATELOR DE PE O FRUNZĂ

Intensitatea transpiraţiei plantelor depinde în mare măsură de numărul stomatelor. Pentru a ne face o idee despre desimea stomatelor de pe o frunză, le putem număra la microscop. De obicei se foloseşte obiectivul cu mărire mijlocie, în cîmpul căruia se pot observa cîteva stomate. Suprafaţa cîmpului obiectivului de la microscopul cu care se lucrează se determină cu micrometrul obiectiv. Se citeşte numărul diviziunilor care corespund diametrului cîmpului. Se află astfel raza, cu ajutorul căreia se calculează suprafaţa cîmpului.

De exemplu, dacă diametrul = 0,21 mm, raza = 0,105 mm, suprafaţa cîmpului va fi egală cu $\pi r^2 = 0{,}034618$ mm^2 = 0,00034618 cm^2. Se calculează apoi suprafaţa frunzei în felul indicat de experienţa nr. 64.

Un material bun pentru numărarea stomatelor îl oferă frunzele de cireş, dud, piersic şi frunzele de *Peperomia* (fam. *Piperaceae*), care prezintă stomate numai pe partea inferioară a frunzelor. Cu ajutorul unui brici se ridică porţiuni de epidermă de pe partea inferioară a frunzei de *Peperomia*, din regiunea vîrfului frunzei, alături de nervura principală. Secţiunea se montează la microscop într-o picătură de apă. Se vor număra stomatele pe trei cîmpuri, luînd în considerare atît stomatele întregi cît şi jumătăţile şi sferturile de stomate. Rezultatele se trec în tabelul 7. Se vor ridica încă 2 segmente de epidermă de pe părţile laterale şi opuse ale frunzei. Apoi, numărul stomatelor se va trece în tabelele respective.

Suma stomatelor din fiecare tabel împărţită la 3 (numărul de cîmpuri observate) ne va da media parţială a numărului de stomate în regiunea respectivă. Suma mediilor parţiale împărţită la 3 (numărul de regiuni cercetate) ne va da o medie generală a numărului de stomate de pe suprafaţa cîmpului obiectivului cu care se lucrează. Exemplu (folosind datele din tabelul 7):

Tabelul 7

Date referitoare la numărarea stomatelor

a

Cîmpuri	Stomate întregi	1/2	1/4
cîmp 1	2	—	—
cîmp 2	1	1	1
cîmp 3	3	—	1

b

Stomate întregi	1/2	1/4
2	1	—
2	1	—
3	—	—

c

Stomate întregi	1/2	1/4
2	1	—
1	1	—
2	—	—

— tabelul nr. 7 *a:* 7 stomate pe 3 cîmpuri; 7 : 3 = 2,3 stomate pe un cîmp;
— tabelul nr. 7 *b:* 8 stomate pe 3 cîmpuri; 8 : 3 = 2,6 stomate pe un cîmp;
— tabelul nr. 7 *c:* 6 stomate pe 3 cîmpuri; 6 : 3 = 2 stomate pe un cîmp.

$$2{,}3 + 2{,}6 + 2 = 6{,}9 : 3 = 2{,}3 \text{ stomate.}$$

Dacă, de pildă, suprafaţa frunzei este de 35 cm², calcularea numărului de stomate se face în felul următor:

Dacă pe suprafaţa cîmpului de 0,00034618 cm² sînt 2,3 stomate
atunci pe suprafaţa frunzei de 35 cm² x

$$x = \frac{35 \times 2{,}3}{0{,}00034618} = 229\,983 \text{ stomate,}$$

ceea ce înseamnă aproximativ 6 428 pe centimetru pătrat

Experienţa nr. 124

DETERMINAREA GRADULUI DE DESCHIDERE A STOMATELOR

Pentru observarea gradului de deschidere a stomatelor, care este în legătură cu intensitatea transpiraţiei, a fotosintezei, precum şi cu respiraţia plantelor, se pot folosi mai multe metode.

a) *Metoda infiltraţiei* (metoda Molisch). Această metodă se bazează pe proprietatea unor lichide uşor difuzibile, de a pătrunde cu uşurinţă în stomatele deschise, umplînd repede spaţiile intercelulare ale frunzei. Acolo unde stomatele se găsesc în stare deschisă, lichidul va pătrunde repede, va înlocui aerul din ţesut şi porţiunea de frunză va deveni translucidă. Dacă stomatele se găsesc în stare de închidere, lichidul nu

va pătrunde și frunza va rămîne opacă. Ca lichide ușor difuzibile se pot folosi eter de petrol, xilol, alcool absolut, ulei de parafină etc. Dintre acestea, de exemplu, eterul de petrol va putea pătrunde prin deschideri mai mici decît xilolul și alcoolul absolut, care pătrund mai greu. În felul acesta, folosind concomitent mai multe lichide, se poate stabili nu numai faptul că stomatele sînt închise sau deschise, dar și gradul lor de deschidere. Aplicarea lichidelor pe frunză se face cu ajutorul unor baghete fine, iar timpul de pătrundere se apreciază cu un cronometru. Metoda infiltrației, departe de a da rezultate precise, deoarece o parte din lichidele amintite pot modifica în același timp permeabilitatea membranelor plasmatice ale celulelor. vii, are însă avantajul că se poate aplica cu ușurință în cîmpul de experimentare.

b) *Metoda fixării în alcool (metoda Lloyd).* Cu ajutorul unui ac spatulat se smulge repede o porțiune din epiderma inferioară a frunzei de *Tradescantia, Pelargonium* etc. și se pune repede într-o sticlă de ceas sau într-un flacon mic cu alcool absolut. Din cauza alcoolului, pereții celulozici se deshidratează brusc și rămîn fixați în starea în care se găseau în momentul de smulgere a epidermei. Starea de închidere sau deschidere a stomatelor se poate urmări imediat după fixare, montînd preparatul pe o lamă la microscop (dacă cercetătorul se găsește în laborator), sau se păstrează multă vreme și se cercetează atunci cînd condițiile permit o cercetare microscopică. Cu ajutorul unui micrometru ocular se poate măsura în microni diametrul ostiolelor și astfel se stabilește gradul de deschidere a stomatelor.

c) *Metoda mulajelor de colodiu.* În loc să se smulgă epiderma, procedeu care modifică totuși într-o oarecare măsură gradul de deschidere a stomatelor, se folosește cu mai bune rezultate metoda mulajelor transparente, care se pot ridica de pe frunze cu ușurință și se pot observa la microscop. Metoda constă în aplicarea pe suprafața unei frunze nedetașate de plantă a unui strat subțire de colodiu (reactivul 31), care se usucă aproape instantaneu și care poate fi ușor ridicat cu ajutorul unei pense. Cu ajutorul unei baghete se întinde într-un strat subțire, pe o porțiune mică de pe suprafața unei frunze de *Tradescantia*, o picătură de colodiu. După cîteva minute, cu multă atenție se desprinde pelicula mulaj și se observă la microscop, montată pe o lamă într-o picătură de apă. Se va constata că pe acest mulaj vor fi imprimate formele celulelor epidermice și gradul de deschidere al osteolelor stomatelor. Diametrul osteolelor se poate măsura cu un micrometru ocular. Metoda mulajelor are inconvenientul că nu se poate aplica decît la frunzele lipsite de peri.

d) *Măsurarea gradului de deschidere a stomatelor cu porometrul Francis Darwin.* Porometrul se compune dintr-un tub de sticlă în formă de T cu brațul vertical mai lung și gradat. Ramul orizontal al tubului se termină la un capăt cu un robinet, iar la celălalt capăt se adaptează un mic clopot cu diametrul de 0,5—1 cm, care se aplică pe fața superioară a unei frunze nedetașate de plantă (fig. 87). Marginea șlefuită

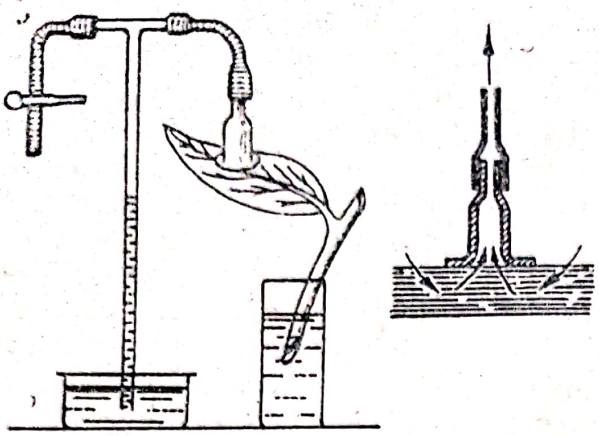


Fig. 87. Porometrul Francis Darwin

a clopotului se lipeşte cu o substanţă grasă pe suprafaţa frunzei de cercetat, iar braţul vertical şi gradat al porometrului se introduce într-un păhărel cu lichid colorat. Deschizînd robinetul şi aspirînd aerul din dispozitiv, se va obţine o rarefiere, iar lichidul colorat se va ridica la un nivel oarecare în tub. În acest moment, robinetul se închide. Dacă nivelul lichidului rămîne constant stomatele sînt închise; dacă sînt deschise, aerul dinafară va pătrunde prin stomate în aparat. În felul acesta, presiunea negativă creată prin aspiraţie, care menţinea coloana de lichid ridicată, se va anula, iar nivelul lichidului va coborî mai repede sau mai încet, în raport cu gradul de deschidere a stomatelor.

Experienţa nr. 125

OBSERVAREA ÎNCHIDERII ŞI DESCHIDERII STOMATELOR

Plantele au posibilitatea de a-şi regla transpiraţia în anumite limite prin mişcarea de închidere şi deschidere a stomatelor. Baza acestei reglări este starea de saturare cu apă a celulelor stomatice. Cînd celulele stomatice se găsesc în stare de turgescenţă, pereţii exteriori, fiind mai subţiri, se întind, se curbează în afară şi trag după ei pereţii interiori mai îngroşaţi ai osteolelor. Stomatele se deschid. Din contra, cînd celulele stomatice pierd apa, ele îşi micşorează volumul, se apropie şi se închid. Această mişcare se constată la dicotiledonate, ale căror celule stomatice sînt reniforme. La monocotiledonate, unde celulele stomatice sînt drepte şi paralele şi pereţii interni sînt groşi, în stare de saturare cu apă a acestor celule, pereţii capetelor celulelor stomatelor, fiind subţiri, se umflă în afară, trăgînd după ei şi pereţii interni, care vor deschide osteola. Starea de saturare cu apă a celulelor stomatice depinde, la rîndul său, de conţinutul de substanţe osmotic active din vacuolele lor; mai depinde de lumină şi de alţi factori. Dacă se montează porţiuni de epidermă inferioară de pe frunza de *Tradescantia* pe o lamă la microscop într-o picătură de apă, se va observa că stomatele au osteolele deschise, dacă observarea se face în timpul zilei. Înlocuind apa de pe lamă cu o soluţie de zaharoză 20%, treptat, se va ajunge ca osteolele să se închidă. Soluţia plasmolizantă de zaharoză va extrage apa din celulele stomatice şi cu cît starea de turgescenţă scade, cu atît ele se alungesc, se alipesc, iar osteola se va închide (fig. 88, *a* şi *b*).

Scanned with OKEN Scanner

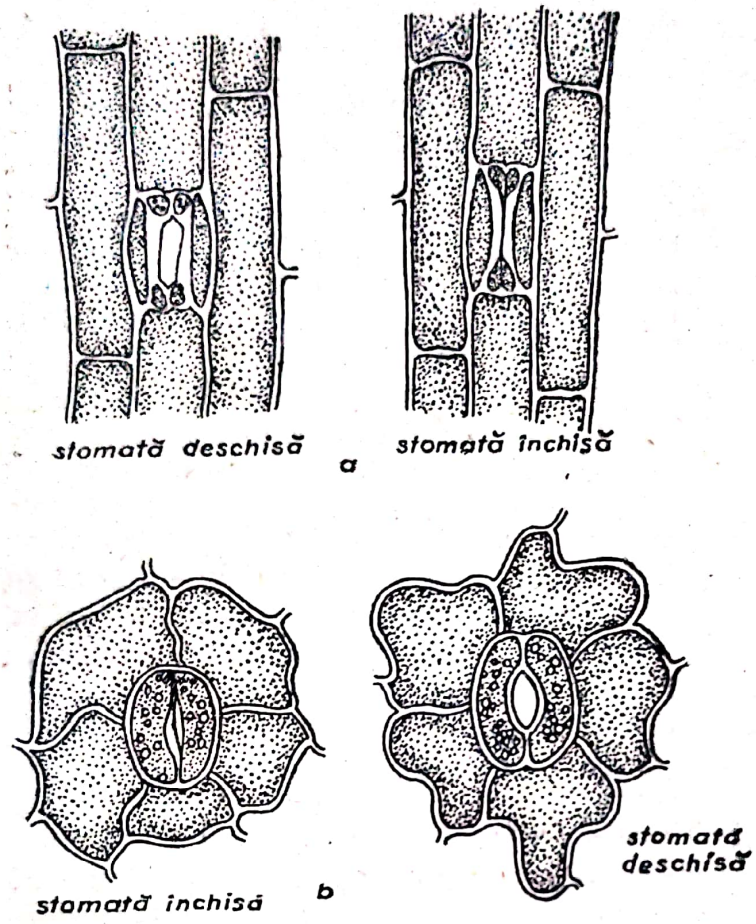


Fig. 88. Observarea închiderii și deschiderii stomatelor la monocotiledonate și dicotiledonate :
a — la monocotiledonate; *b* — la dicotiledonate.

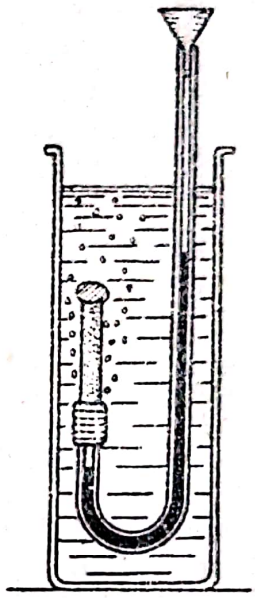


Fig. 89. Difuziunea gazelor prin lenticele.

Experiența nr. 126

DIFUZIUNEA GAZELOR PRIN TULPINILE PLANTELOR

Schimbul de gaze la tulpinile plantelor se face prin lenticele, ca și prin pereții poroși. Difuziunea gazelor la tulpini se demonstrează precum urmează: se ia un tub de sticlă îndoit în formă de U cu brațe inegale. La ramul mai scurt, se atașează prin intermediul unei garnituri de cauciuc un segment de 7—10 cm dintr-o ramură de *Sambucus nigra*. Capătul superior al acestui segment se acoperă cu un capușon de ceară, pentru ca vasele să se închidă. Tot acest dispozitiv se introduce într-un vas cilindric cu apă. Prin ramul lung se toarnă mercur, care se va ridica și în ramul scurt, comprimînd o coloană de aer între mercur și segmentul de *Sambucus*. Sub presiunea mercurului, aerul intră prin spațiile aerifere de pe secțiunea inferioară a segmentului, difuzează și va ieși prin lenticele sub formă de șiruri de bule gazoase, care se observă foarte bine în apă (fig. 89).

Scanned with OKEN Scanner

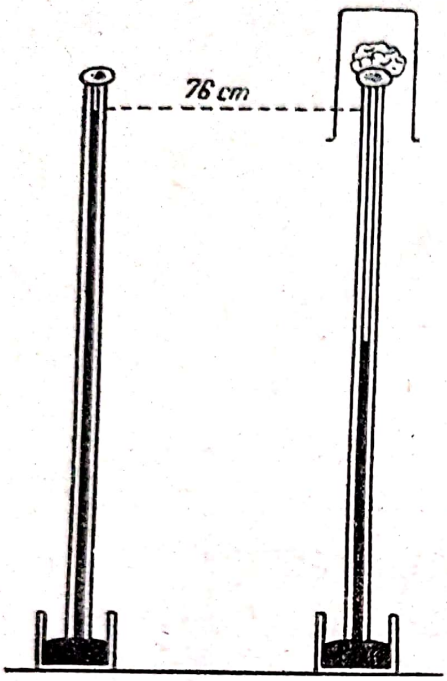


Fig. 90. Experienţa Bequerel.

Experienţa nr. 127

TRECEREA GAZELOR PRIN PEREŢI NEPOROŞI (EXPERIENŢA BEQUEREL)

Difuziunea gazelor prin membranele lipsite de pori decurge datorită solubilităţii gazelor în lichidul care îmbibă membrana. Viteza de difuziune $V = \frac{\text{solubilitatea}}{\sqrt{\text{densitatea}}}$

S-a demonstrat că membranele seminţelor (membrane neporoase) permit trecerea aerului numai cînd sînt îmbibate cu apă. Prin membranele uscate, aerul nu difuzează. Se iau 2 tuburi de sticlă lungi de 80 cm. La capătul unuia din tuburi se lipeşte cu ceară roşie o sămînţă de lupin îmbibată cu apă. La celălalt tub, o sămînţă de lupin uscată. Se umplu ambele tuburi cu mercur şi se răstoarnă fiecare tub într-un vas cu mercur. Se obţin astfel două tuburi Torricelli. În fiecare tub, mercurul va coborî pînă la înălţimea de 76 cm. Pe sămînţa umedă se aplică un tampon de vată umezită cu apă şi deasupra se suspendă un vas care să menţină o atmosferă umedă. După 10—12 ore, mercurul din tubul cu sămînţa îmbibată a coborît mult, pe cînd în tubul cu sămînţa uscată se menţine la nivelul de 76 cm (fig. 90). Prin această experienţă se demonstrează că aerul pătrunde ca urmare a solubilităţii sale în apa ce îmbibă testa seminţelor, determinînd coborîrea mercurului.

BIBLIOGRAFIE

1. Brugovitzky, Edit, *Növényélettani vizsgálatok*, Bukarest, Mezőgazdasági és erdészeti állami könyvkiadó, 1957.
2. Chirilei, H., Puşcaş, M., Bărbat, I., *Manual de fiziologia plantelor*, Bucureşti, Litografia şi tipografia învăţămîntului, 1957.
3. Dorobanţu, M., Mavromati, E., Dvornic, V., Sili, E., *Îndrumător pentru lucrări practice de fiziologia plantelor*, Bucureşti, Institutul agronomic „Nicolae Bălcescu", Atelierele de material didactic, 1958.
4. Georgescu, C. C., Popovici, S., *Îndrumar de lucrări practice la fiziologia plantelor*, Braşov, Litografia Învăţămîntului, 1956.

Scanned with OKEN Scanner

5. Maximov, N. A., *Manual de fiziologia plantelor*, București, Editura de stat pentru literatură științifică, 1951.
6. Moisescu, N., *Fiziologia vegetală experimentală*, București, Editura „Minerva". 1907.
7. Pop, E., Péterfi, Șt., Sălăgeanu, N., Chirilei, H., *Manual de fiziologia plantelor*, vol. I și II, București, Editura de stat didactică și pedagogică, 1958—60.
8. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., Miller, M. S., Anikeev, V. V., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, Sovetskaia nauka, 1958.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL V

FOTOSINTEZA

de șef de lucrări VASILE D. PETREA
candidat în științe biologice

Prin fotosinteză, plantele verzi produc substanțe organice, din CO_2 și apă, în prezența clorofilei și cu ajutorul energiei luminoase, cu eliberarea de oxigen, după formula:

$$CO_2 + H_2O + \text{energie} \rightarrow \text{substanță organică} + O_2$$

Diferitele metode de punere în evidență și de determinare cantitativă a procesului de fotosinteză se bazează fie pe consumul de CO_2, fie pe producerea de substanță organică sau pe eliminarea de oxigen.

1. METODELE CALITATIVE PENTRU PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A FOTOSINTEZEI

Experiența nr. 128

METODA BULELOR

Fig. 91. Metoda bulelor.

Se ia o ramură a unei plante submerse *(Elodea, Myriophyllum* sau *Ceratophyllum)*, se secționează oblic la partea bazală și se introduce cu vîrful în jos într-o eprubetă cu apă de conductă. Cu ajutorul unei baghete de sticlă se fixează ramura în așa fel, ca partea secționată să se găsească la 2—3 cm sub nivelul apei și să nu atingă pereții eprubetei (fig. 91).

Se așază eprubeta cu ramura la lumină naturală sau în fața unui bec electric de 100—150 W. După 2—3 minute, prin partea secționată încep să se degaje bule de gaz.

Eliminarea bulelor de gaz prin partea secționată a ramurii se explică în felul următor: oxigenul care se formează în procesul fotosintezei difuzează în spațiile intercelulare și se degajă sub formă de bule prin partea secționată, unde spațiile intercelulare comunică cu exteriorul. În afară de oxigen, aceste bule de gaz mai conțin și azot, iar uneori chiar CO_2, care difuzează în spațiile intercelulare împreună cu oxigenul.

Dacă degajarea de bule nu are loc după expunerea ramurii la lumină, se face o nouă secționare, mai oblică, iar cînd bulele sînt prea numeroase, secționarea se face mai puțin oblică.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 129

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A OXIGENULUI ELIMINAT ÎN FOTOSINTEZĂ PRIN METODA JAN INGENHOUSZ

Într-un cilindru de sticlă sau pahar Berzelius plin cu apă de conductă se pun ramuri de *Elodea*, *Ceratophyllum* sau *Myriophyllum*, care se acoperă cu o pîlnie aşezată cu gura în jos. Peste gîtul pîlniei se aşază o eprubetă plină cu apă, ca în figura 92. Pentru a fixa eprubeta trebuie ca nivelul apei din vas să treacă peste partea superioară a pîlniei. Vasul astfel montat se aşază la lumina directă a soarelui sau la un bec electric. Oxigenul rezultat în procesul de fotosinteză se degajă sub formă de bule şi se adună la partea superioară a eprubetei.

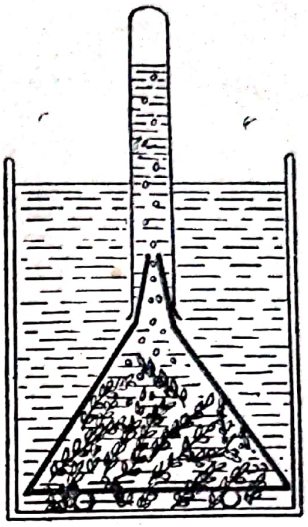


Fig. 92. Captarea oxigenului produs în fotosinteză (după Brugovitzky).

Analizele au arătat că gazul din eprubetă este oxigen. Pentru a ne convinge de aceasta, acoperim gura eprubetei cu degetul, o ridicăm din apă, o întoarcem cu gura în sus şi introducem repede în interiorul ei un băţ de chibrit care arde fără flacără; acesta va începe să ardă cu flacără vie. Gazul, acumulat în eprubetă, care întreţine arderea este deci oxigen. Ca fotosinteza să aibă loc în bune condiţii, trebuie ca apa din vas să fie bogată în CO_2, de aceea, se adaugă o cantitate mică de $NaHCO_3$, aproximativ 0,1%.

Experienţa nr. 130

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A OXIGENULUI PRODUS ÎN FOTOSINTEZĂ PRIN METODA ENGELMANN

Această metodă se bazează pe proprietatea ce o au unele bacterii aerobe de a se îndrepta spre locurile mai bogate în oxigen ale mediului.

Pentru experienţă folosim o cultură de *Bacillus subtilis*, care este avid de oxigen. Bacteriile se obţin ţinînd boabe de fasole sau mazăre în apă 2—3 zile în termostat la 36°C sau făcînd o infuzie de fîn, care se ţine 2—3 zile în termostat la 36°C.

Se ia o picătură de la suprafaţa acestui mediu de cultură pe o lamă de sticlă, iar în picătura de lichid se pune fie o algă monocelulară, fie un filament de *Spirogyra* şi se acoperă cu o lamelă. Marginile lamelei se ung cu vaselină, pentru a împiedica pătrunderea aerului dinafară. Vom observa la început că bacteriile sînt repartizate uniform în cîmpul microscopului şi execută mişcări vii. Cu timpul însă, ele se aglomerează în jurul algei (fig. 93). Aceasta se datoreşte faptului că alga, în

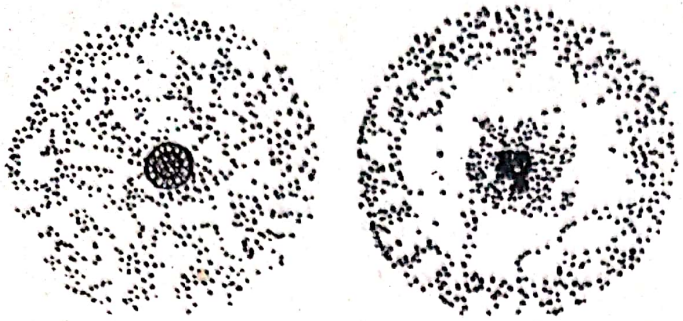


Fig. 93. Evidenţierea oxigenului produs în fotosinteză prin metoda Engelmann (după Engelmann).

procesul de fotosinteză, elimină oxigen, iar bacteriile se aglomerează în jurul algei, unde concentraţia acestuia este mai mare. Dacă se îndepărtează lumina şi se acoperă microscopul cu pînză neagră 2—3 minute, bacteriile se răspîndesc din nou în mediul de cultură. Experimentînd cu *Spirogyra*, la care cloroplastele au formă de panglică în spirală, iar între spire sînt porţiuni de protoplasmă incoloră, bacteriile se vor grupa în acele porţiuni ale filamentului unde cloroplastul se apropie de membrana celulară.

Această metodă este foarte sensibilă, deoarece cu ajutorul ei se poate pune în evidenţă a suta bilioana parte dintr-un miligram de oxigen.

Experienţa nr. 131

METODA CU INDIGOCARMIN PENTRU PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A OXIGENULUI REZULTAT ÎN FOTOSINTEZĂ

Dizolvînd 0,1 g de indigocarmin în 1 000 ml de apă, se obţine o soluţie de culoare albastră, care prin reducere cu o soluţie de $Na_2S_2O_4$ îşi pierde coloraţia. Agitînd soluţia în prezenţa aerului, coloraţia albastră reapare, trecînd în formă oxidată.

Bazîndu-ne pe această proprietate a indigocarminului, putem pune în evidenţă oxigenul degajat în procesul fotosintezei, procedînd astfel: se iau două eprubete în care se pun ramuri de *Elodea* şi se umplu cu soluţie 0,1 g la litru indigocarmin. Se decolorează soluţia de indigocarmin cu cîteva picături dintr-o soluţie de 10% $Na_2S_2O_4$, avînd grijă ca după adăugarea fiecărei picături să agităm amestecul cu o baghetă, pentru ca soluţia de ditionit de sodiu să nu fie în exces. Se toarnă la suprafaţa soluţiei un strat subţire de ulei, pentru a împiedica pătrunderea oxigenului din aer şi se ţine una din eprubete la lumina unui bec electric sau la soare, iar a doua la întuneric.

După 15—20 minute se constată că în eprubeta care a stat la lumină soluţia din jurul plantei se colorează în albastru, pe cînd soluţia din eprubeta ţinută la întuneric nu suferă nici o modificare.

În primul caz, soluţia se colorează datorită oxigenului pus în libertate de plantă în procesul de fotosinteză.

Experienţa se poate efectua şi cu o soluţie de 0,01% albastru de metilen. În acest caz însă, înălbăstrirea soluţiei are loc mai încet.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 132

OBSERVAREA MICROSCOPICĂ A GRANULELOR DE AMIDON DIN FRUNZE

Se iau frunze de *Elodea*, care au stat cîteva ore la lumină, se fierb în apă 2—3 minute și apoi în alcool etilic pînă la decolorare. După decolorare se țin frunzele într-o sticlă de ceas cu KOH 1% timp de 4—5 minute, se spală cu apă distilată, se colorează cu o soluție de iod în KI (reactivul 64), se spală din nou cu apă distilată și se observă la microscop.

În interiorul cloroplastelor vom vedea granule de amidon colorate în albastru.

Rezultate mai bune se obțin dacă se face decolorarea cu cloral hidrat (hidrat de cloral — reactivul 21), care distruge clorofila.

În acest caz, decolorarea frunzei și colorarea granulelor de amidon se fac direct pe lama de sticlă într-o picătură de soluție de cloral hidrat și iod în KI. Procedînd în acest fel, nu mai este nevoie ca să fierbem frunza în apă și în alcool etilic.

Experiența nr. 133

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A AMIDONULUI DIN FRUNZE PRIN METODA J. SACHS

La lumină, în frunzele plantelor verzi se depune amidon, care dispare atunci cînd frunzele sînt trecute la întuneric un timp mai îndelungat. Dacă frunzele sînt trecute din nou la lumină, acoperind cu un paravan opac unele porțiuni, iar altele lăsîndu-le libere, amidonul se va forma numai în porțiunile care au primit lumină.

Pentru a observa formarea amidonului în frunze, se procedează în felul următor. Se țin ghivece cu *Pelargonium zonale* sau *Tropaeolum majus* la întuneric 1—2 zile, pînă se consumă toată rezerva de amidon. Se acoperă o frunză pe ambele părți cu hîrtie neagră sau staniol, din care s-a decupat o figură oarecare, și se ține planta la soare sau la un bec electric de 300 W. După 1—2 ore se detașează frunza de plantă, se fierbe în apă 2—3 minute, pentru a omorî celulele, apoi se fierbe în alcool pînă la decolorare. Se spală frunza cu apă și se introduce într-o soluție de iod în KJ (reactivul 64). Frunza se colorează în albastru datorită formării amidonului numai în dreptul porțiunii decupate, adică unde frunza a fost iluminată (fig. 94).

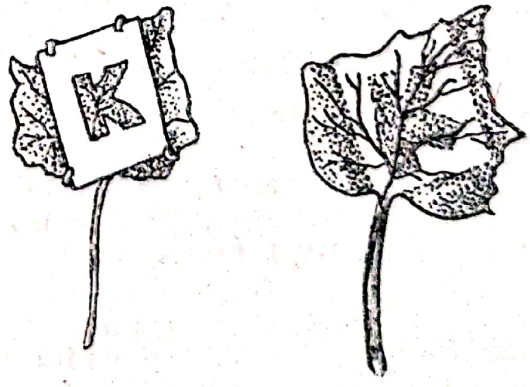


Fig. 94. Punerea în evidență a amidonului produs în fotosinteză prin metoda Sachs (după F. D. Skazkin și colaboratorii).

Experienţa nr. 134

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A SUBSTANŢELOR PROTEICE DIN FRUNZE, REZULTATE ÎN PROCESUL FOTOSINTEZEI

În procesul fotosintezei, o dată cu formarea glucidelor, iau naştere şi substanţe proteice, fapt ce a fost demonstrat pentru prima dată de V. V. Sapojnikov şi confirmat apoi şi de alţi cercetători.

Pentru a pune în evidenţă formarea substanţelor proteice în fotosinteză, se procedează astfel: se ţin la întuneric cîteva zile plante tinere de tutun, varză, sfeclă sau de muşcată. Se acoperă apoi cîteva frunze cu hîrtie neagră, din care s-a decupat o figură oarecare (aşa cum s-a procedat la experienţa nr. 133), şi se ţin la lumină sau la un bec electric trei zile. După aceea se detaşează frunzele de pe plante, se fierb în apă 1—2 minute, se trec apoi într-un balon cu alcool etilic 96% şi se fierb 30 minute, pînă se extrage toată clorofila. Se spală cu puţină apă distilată şi se pun în cutii Petri, unde se efectuează reacţiile de culoare pentru substanţele proteice:

a) *Reacţia biuretului.* Peste una din frunze se toarnă o soluţie de $CuSO_4$ 5%, în care se lasă o oră, după care se spală cu apă distilată şi se adaugă o soluţie de NaOH 10%. În partea iluminată a frunzei (în dreptul figurii decupate), frunza se colorează în violet, ce creşte în intensitate pe măsură ce trece timpul.

b) *Reacţia xantoproteică.* Se adaugă peste una din frunze acid azotic, diluat cu o cantitate egală de apă. După 15—30 minute, în partea iluminată apare o coloraţie galbenă, care prin adăugare de NH_4OH diluat cu apă în proporţia 1 : 2 se colorează în portocaliu.

c) *Reacţia Millon.* Se ţine o altă frunză timp de 30—60 minute în reactiv Millon (reactivul 54). Se îndepărtează reactivul şi se observă că în partea care a fost iluminată frunza se colorează în roşu.

2. METODE CANTITATIVE PENTRU DETERMINAREA INTENSITĂŢII FOTOSINTEZEI

Experienţa nr. 135

DETERMINAREA INTENSITĂŢII FOTOSINTEZEI DUPĂ CANTITATEA DE SUBSTANŢĂ USCATĂ ASIMILATĂ (METODA JUMĂTĂŢILOR DE FRUNZĂ A LUI J. SACHS)

Determinarea intensităţii fotosintezei după această metodă se bazează pe aflarea surplusului de substanţă organică formată într-un anumit interval de timp. Deoarece oscilaţiile cantităţii de apă pot masca modificările substanţei uscate, înainte de cîntărire frunza se usucă pînă la greutate constantă.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru determinarea intensității fotosintezei se aleg frunze simetrice și se taie dimineața din fiecare cîte o jumătate, în așa fel ca jumătatea cealaltă să rămînă pe plantă împreună cu nervura mediană. Jumătățile de frunză tăiate se țin în apă ca să devină turgescente și să se poată perfora mai ușor. Se așază apoi pe o bucată de carton neted și din ele se taie rondele cu ajutorul unui perforator de dopuri (aproximativ 300 rondele). Rondelele se pun într-o fiolă de cîntărit sau pe o sticlă de ceas a cărei greutate o cunoaștem și se usucă în termostat la temperatura de 100—105°C timp de 2 ore. După aceea se țin în exsicator 20 minute și se cîntăresc apoi la balanța analitică. Se pun din nou în termostat 30 minute și după o răcire prealabilă în exsicator se recîntăresc. Se repetă aceste operații pînă la greutatea constantă. Cunoscînd diametrul perforatorului, se calculează suprafața rondelelor și se află cantitatea de substanță uscată corespunzătoare la unitatea de suprafață (1 dm^2) a jumătăților de frunză de control. Jumătățile de frunză rămase pe plantă (4—6—8 ore sau chiar de dimineața pînă seara) se recoltează după trecerea intervalului de timp ales și se scoate din ele același număr de rondele, procedîndu-se ca în cazul jumătăților de frunze recoltate la începerea experienței. Se determină apoi substanța uscată a rondelelor din acest lot.

Făcînd diferența dintre greutatea substanței uscate a celui de-al doilea lot de rondele și a celui care a fost luat la început, se află substanța organică depusă în timpul determinării. Această valoare însă nu reprezintă toată cantitatea de substanță organică ce s-a produs, deoarece, în timpul cît a rămas pe plantă cea de a doua jumătate de frunză, o parte din substanța organică din ea a fost condusă în tulpină și rădăcină, iar altă parte a fost consumată în respirație. Pentru a afla cantitatea de substanță transportată și cea consumată, o parte din jumătățile de frunză care au rămas pe plantă se acoperă cu hîrtie neagră. Cu aceste jumătăți acoperite se procedează ca și în cazul celor neacoperite, pentru a afla cantitatea de substanță uscată a rondelelor obținute din ele. Făcînd diferența dintre greutatea rondelelor din lotul inițial și a celor scoase din jumătățile de frunze acoperite, se află cantitatea de substanță organică pierdută. Adăugînd această valoare la aceea care reprezintă substanța organică acumulată în timpul experienței, aflăm cantitatea totală de substanță organică produsă în fotosinteză.

Experiența nr. 136

DETERMINAREA INTENSITĂȚII FOTOSINTEZEI LA PLANTELE SUBMERSE PRIN METODA WINKLER

Metoda se bazează pe determinarea oxigenului dizolvat în apă, rezultat în urma procesului de fotosinteză. Pentru dozarea oxigenului din apă se adaugă acesteia cantități determinate dintr-o soluție de

$MnCl_2$ și de KI în NaOH. În urma adăugării acestor soluții, se formează hidroxid manganos, după reacția:

$$MnCl_2 + 2NaOH = Mn(OH)_2 + 2NaCl$$

Hidroxidul manganos rezultat se combină cu oxigenul dizolvat în apă, transformîndu-se în hidroxid manganic:

$$4Mn(OH)_2 + O_2 + 2H_2O = 4Mn(OH)_3$$

Hidroxidul manganic se dizolvă prin adăugarea unei soluții de HCl concentrat și în prezența KI se pune în libertate iod, după reacția:

$$4Mn(OH)_3 + 12HCl + 4KI = 4MnCl + 4KCl_2 + 12H_2O + 2I_2$$

Iodul pus în libertate se titrează în prezența unei soluții de clei de amidon 0,2%, cu tiosulfat de sodiu. Acesta se combină cu iodul și formează tetrationat de sodiu, după reacția:

$$2Na_2S_2O_3 + I_2 = Na_2S_4O_6 + 2NaI$$

Cunoscînd cantitatea de tiosulfat folosită la titrare și echivalentul în oxigen al acestuia, se calculează cantitatea de O_2 dizolvat în apa analizată.

Modul de lucru. Pentru experiență se aleg două flacoane cu dop rodat, cu pereții transparenți și de preferință cu volum apropiat (circa 250 ml). Se umplu sticlele cu apă pînă la refuz și într-una din ele se pun ramuri de *Elodea* sau o altă plantă submersă, a cărei intensitate a fotosintezei voim să o aflăm. Volumul plantei nu trebuie să depășească 0,5 cm^3. Se închid sticlele cu dopul, avînd grijă să nu rămînă bule de aer, și se lasă o oră la lumina soarelui sau în apropierea unui bec electric. După trecerea acestui interval de timp se scoate planta cu o pensă și se dozează oxigenul dizolvat în ambele flacoane, procedînd astfel: cu ajutorul unei pipete cu vîrful lung, ca să ajungă pînă la fundul flaconului, introducem în fiecare din ele cîte 1 ml de soluție de KI în NaOH (reactivul 46) și 1 ml de soluție de $MnCl_2$ (reactivul 26). Se închid din nou flacoanele, se agită pentru ca $Mn(OH)_2$ rezultat să vină în contact cu tot O_2 dizolvat în apă și se lasă în repaus, pînă se depune precipitatul format. După depunerea precipitatului, introducem în fiecare flacon cîte 3 ml HCl fumans, cu ajutorul unei pipete cu vîrful lung, care să ajungă deasupra precipitatului. Închidem flacoanele și le agităm pînă se dizolvă precipitatul, punîndu-se iod în libertate. Acesta se titrează cu tiosulfat de sodiu 0,01 *n* (reactivul 72), în felul următor: se trece conținutul flaconului în care a stat planta (proba de experiență) într-un balon Erlenmeyer, se spală sticla cu puțină apă distilată, pe care o adăugăm tot în balon, și se titrează, agitînd mereu lichidul, pînă cînd ajunge la culoarea galbenă-deschis. Se adaugă apoi cîteva picături de clei de amidon 0,2% (reactivul 20 *c*); lichidul se colorează în albastru și se continuă titrarea pînă la incolor. Se procedează la fel cu flaconul fără plantă (proba de control).

Știind că la 1 ml de tiosulfat de sodiu 0,01 *n* corespund la 0°C și 760 mm presiune 0,056 cm^3 sau 0,08 mg O_2, se calculează cantitatea de oxigen dizolvat în apă din cele două sticle după formula:

$$\frac{n \cdot F \cdot 1000 \cdot 0{,}056}{V - v} = cm^3\ O_2/\text{litru},$$

în care:

n este numărul de mililitri de tiosulfat folosit la titrare;
F — factorul soluției de tiosulfat;
V — volumul flaconului;
v — volumul de apă dezlocuit prin introducerea soluțiilor de KI în NaOH și $MnCl_2$;
0,056 — cantitatea de oxigen care corespunde la 1 ml de tiosulfat 0,01 *n*, în cm^3. Dacă vrem să exprimăm cantitatea de O_2 în miligrame, se înlocuiește 0,056 cu 0,08.

După calcularea cantității de O_2 din ambele flacoane, se face diferența între cantitatea de oxigen din proba de experiență și cea din proba de control și se obține cantitatea de oxigen produsă de plantă în cursul determinării.

Se cîntărește apoi planta, după ce în prealabil am îndepărtat apa de pe ea cu o hîrtie de filtru, și se calculează cantitatea de oxigen eliminat de 1 g de plantă într-un litru de apă în timp de o oră, după formula:

$$\frac{d \cdot 60}{t \cdot g},$$

în care:

d este diferența între cantitatea de oxigen din proba de experiență și cea de control;
t — durata experienței, în min;
g — greutatea proaspătă a plantei.

Cînd vrem să raportăm cantitatea de oxigen la greutatea uscată a plantei, ținem planta în termostat la temperatura de 100—105°C pînă cînd greutatea ei rămîne constantă.

Experiența nr. 137

DETERMINAREA INTENSITĂȚII FOTOSINTEZEI PRIN METODA L. A. IVANOV ȘI N. L. KOSSOVICI

Metoda se bazează pe determinarea cantității de CO_2 absorbit de plante, dintr-un volum de aer cunoscut, în procesul fotosintezei.

Pentru determinarea intensității fotosintezei se folosesc 2 baloane de sticlă cu capacitatea de 1—3 l. Baloanele trebuie să aibă aproximativ același volum. Gîtul acestor baloane este astupat cu cîte un dop de cauciuc *a*, străbătut de o vergea metalică *b*, la capătul căreia este

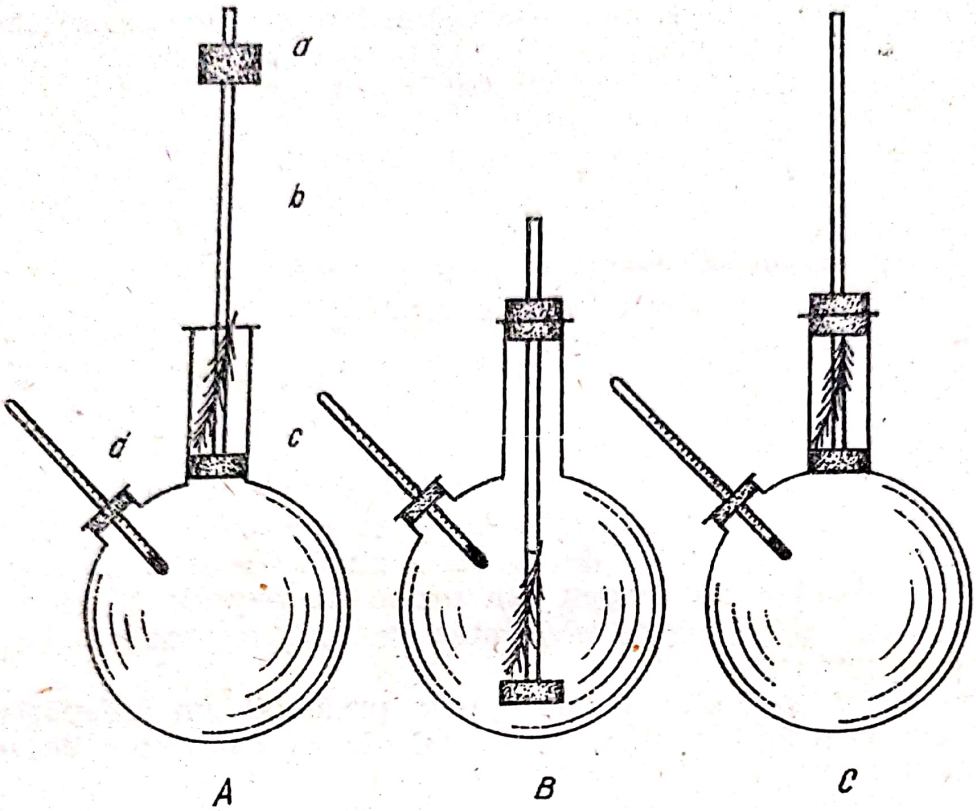


Fig. 95. Dispozitivul Ivanov pentru determinarea intensității fotosintezei (după F. D. Skazkin și colaboratorii).

fixat un al doilea dop *c*. În peretele lateral al balonului se găsește un orificiu astupat cu un dop de cauciuc perforat *d*, prin care trece un termometru (fig. 95, *A*).

Modul de lucru. Ramura cu frunze căreia i se determină intensitatea fotosintezei se leagă de vergeaua metalică în porțiunea dintre cele două dopuri. Pentru a împiedica veștejirea frunzelor, capătul secționat al ramurii se acoperă cu puțină vată îmbibată cu apă.

Se aerisesc baloanele cu ajutorul unui suflător sau cu o pară de cauciuc și se introduce vergeaua cu ramura în interiorul balonului de experiență, în așa fel ca dopul *a* să astupe gîtul acestuia, iar dopul *c* să se găsească aproape de fundul balonului (fig. 95, *B*). Se procedează la fel cu balonul pentru proba-martor, cu deosebirea că în acesta nu se introduce o ramură cu frunze. Se notează temperatura din interiorul baloanelor și apoi se așază la lumina soarelui sau la un bec electric 15—20 minute.

După trecerea acestui interval de timp, se trece ramura din balonul de experiență în gîtul acestuia, trăgînd de vergeaua metalică pînă cînd dopul *c* astupă capătul inferior al gîtului balonului (fig. 95, *C*). Se trage apoi vergeaua și de la celălalt balon.

După aceea se citește temperatura din interiorul baloanelor și, în cazul cînd ea a crescut, se răcește aerul din ele pînă la temperatura inițială, ținîndu-le sub un curent de apă. În cazul cînd temperatura a

scăzut, se încălzesc baloanele între palme pînă cînd revine la cea inițială. În felul acesta se evită ieșirea sau intrarea aerului în balon în timpul titrării.

Se scoate apoi termometrul din dopul *d*, se introduc în baloane 3 picături de fenolftaleină 1% (reactivul 33) și 20 ml $Ba(OH)_2$ *n*/50 (reactivul 38). Se astupă orificiul dopului *d* cu termometrul sau cu o baghetă de sticlă și se agită baloanele 15 minute, pentru ca tot CO_2 rămas în aerul din ele să reacționeze cu $Ba(OH)_2$. Se scoate apoi termometrul sau bagheta și se titrează excesul de $Ba(OH)_2$ cu HCl *n*/50 (reactivul 4 *c*), folosind o biuretă, la vîrful căreia se atașează un tub capilar al cărui capăt se introduce în balon prin orificiul dopului *d*. La titrarea $Ba(OH)_2$ din balonul de experiență, se va consuma o cantitate mai mare de HCl decît la balonul-martor, deoarece în balonul de experiență o parte din CO_2 a fost folosit în fotosinteză.

Cantitatea de CO_2 asimilat de plantă în fotosinteză se calculează după formula:

$$If = \frac{(a-b) \cdot f \cdot 0{,}224 \times 60 \cdot 100}{s \cdot t},$$

în care:

If este intensitatea fotosintezei, în cm^3 $CO_2/dm^2/h$;
a — numărul de mililitri HCl *n*/50 folosit la titrarea probei de experiență;
b — numărul de mililitri HCl *n*/50 folosit la titrarea probei-martor;
f — factorul soluției de HCl *n*/50;
s — suprafața frunzei, în cm^2 (v. experiența nr. 64);
t — durata experienței, în min;
0,224 — cantitatea de CO_2 care corespunde la 1 ml HCl exact *n*/50, în cm^3 (pentru deducerea acestei valori, v. experiența nr. 138);
60 — numărul de minute dintr-o oră;
100 — coeficient pentru raportarea intensității fotosintezei la 1 dm^2.

Experiența nr. 138

DETERMINAREA INTENSITĂȚII FOTOSINTEZEI PRIN METODA CURENTULUI DE AER (DUPĂ KRASNOSELSKAIA-ORDOIAN ȘI RICHTER)

Metoda se bazează pe determinarea cantității de CO_2 din două volume egale de aer, dintre care unul este trecut sub forma unui curent peste frunza plantei de experiență, iar celălalt servește ca martor.

Metoda curentului de aer prezintă avantajul că permite determinarea intensității fotosintezei la frunze nedesprinse de plantă, într-un curent de aer în care concentrația CO_2 rămîne la fel cu aceea din atmosferă, adică în condiții care nu se îndepărtează prea mult de cele naturale.

Scanned with OKEN Scanner

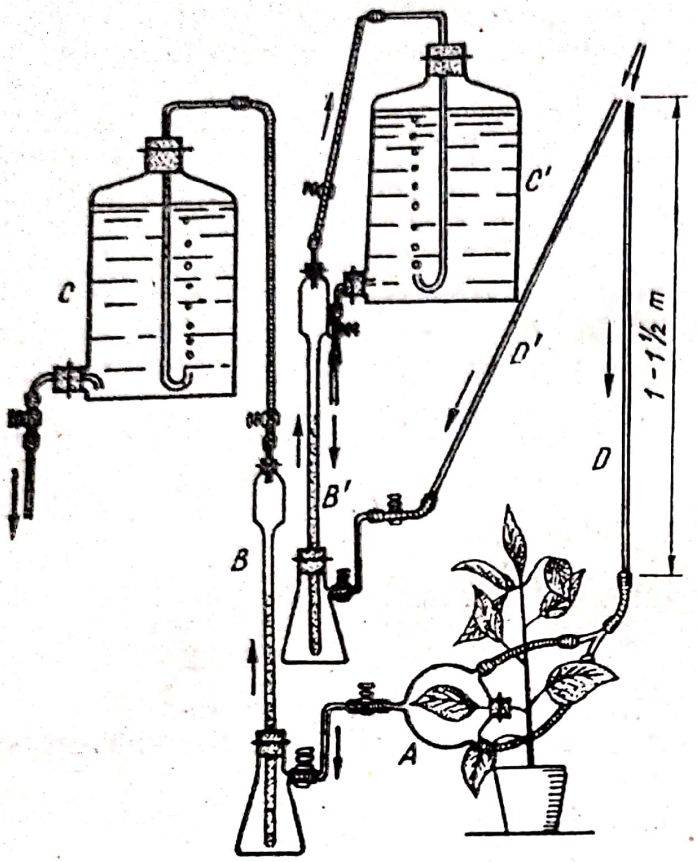


Fig. 96. Instalaţia pentru determinarea intensităţii fotosintezei prin metoda curentului de aer, după Krasnoselskaia — Ordoian şi Richter (după F. D. Skazkin şi colaboratorii).

Instalaţia folosită (fig. 96) este alcătuită dintr-o cameră de asimilaţie *A*, un dispozitiv de absorbţie *B*, în care se găseşte $Ba(OH)_2$, şi dintr-o sticlă cu tubulară laterală *C*, care serveşte ca aspirator de aer.

Trecînd prin camera de asimilaţie un volum de aer determinat, soluţia de $Ba(OH)_2$ va absorbi cantitatea de CO_2 rămasă în aer, după trecerea acestuia prin camera de asimilaţie. În afară de această instalaţie, se mai foloseşte încă una asemănătoare (de control), fără cameră de asimilaţie, cu ajutorul căreia se determină cantitatea de CO_2 din aerul înconjurător. Determinînd cantitatea de CO_2 din volume egale de aer, care au trecut în acelaşi interval de timp prin dispozitivul de control şi de experienţă, se poate afla cantitatea de CO_2 asimilată de frunză.

Pentru a avea o concentraţie constantă de CO_2 trebuie ca tuburile de sticlă *D* şi *D'*, prin care vine aerul, să fie la o înălţime de 1—1,5 m faţă de plantă, iar capetele prin care intră aerul să fie alăturate.

Descrierea diferitelor părţi ale instalaţiei. *Dispozitivul de absorbţie* (fig. 97) constă dintr-un tub de sticlă lărgit la partea superioară şi prevăzut la partea inferioară cu o placă filtrantă din sticlă poroasă. Placa filtrantă se fixează la distanţa de 1—1,5 cm faţă de capătul inferior al tubului, care este ascuţit.

Diametrul tubului de absorbţie este de 2—2,5 cm, iar lungimea pînă la partea lărgită (porţiunea în care se ridică soluţia de $Ba(OH)_2$ în timpul absorbţiei) este de 38—40 cm. Partea lărgită a tubului are diametrul de 5—5,5 cm, iar lungimea de 8—10 cm. La capătul superior al tubului se găseşte un dop de cauciuc, prin care trece un tub de sticlă, pus în legătură cu un tub de cauciuc prevăzut cu pensă. Acest tub uneşte dispozitivul de absorbţie cu aspiratorul. Partea inferioară a tubului de absorbţie pătrunde printr-un dop de cauciuc într-un balon Bunsen. Tubul lateral al balonului Bunsen se leagă printr-un tub de cauciuc prevăzut cu o pensă de camera de asimilaţie.

Scanned with OKEN Scanner

La începutul determinării, după ce a fost fixată frunza în camera de asimilație, se pun în balonul Bunsen 100 ml dintr-o soluție de $Ba(OH)_2$ *n/50*. Prin trecerea curentului de aer se formează bule, datorită cărora suprafața de contact a aerului cu soluția de $Ba(OH)_2$ se mărește.

Camera de asimilație. Camera de asimilație (fig. 98), în care stă frunza în timpul determinării, poate fi turtită *(A)*, sferică *(B)* sau cilindrică *(C)*.

Camera de formă turtită *(A)* constă dintr-o ramă de lemn, care are în interior două plăci de lemn montate în așa fel, încît să îngusteze camera spre tubul de ieșire *(1)*. Rama este acoperită cu două plăci de sticlă. Frunza se introduce prin deschiderea inferioară, și după aceea se apropie cele două clape *(2)* pînă ajung lîngă pețiol, însă nu prea mult. Aerul pătrunde în cameră prin spațiul care rămîne între pețiol și cele două clape. Această cameră de asimilație are inconvenientul că aerul care pătrunde în interiorul ei este absorbit din apropierea plantei, unde sînt oscilații mari în concentrația CO_2. De aceea, sînt mai folosite camerele *B* și *C*.

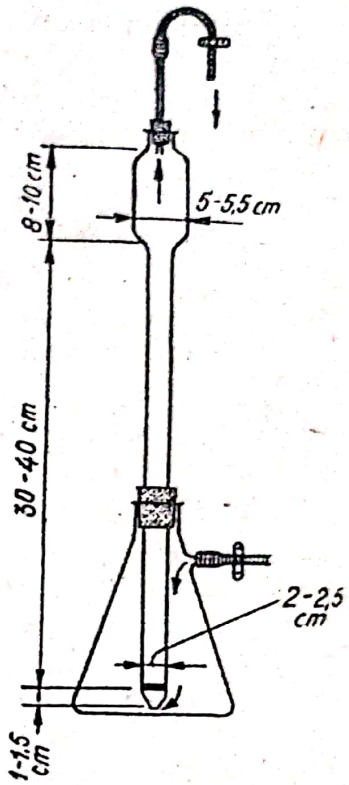


Fig. 97. Dispozitivul de absorbție (după F. D. Skazkin și colaboratorii).

Dimensiunile camerei sferice *(B)* depind de lățimea frunzei. Ea se construiește dintr-un balon de sticlă cu gîtul larg *(3)*, prin care se introduce frunza.

Mai jos de gîtul balonului prin care intră frunza, de o parte și de alta, sînt două tuburi mici de sticlă *(4)*, prin care intră aerul în camera de asimilație.

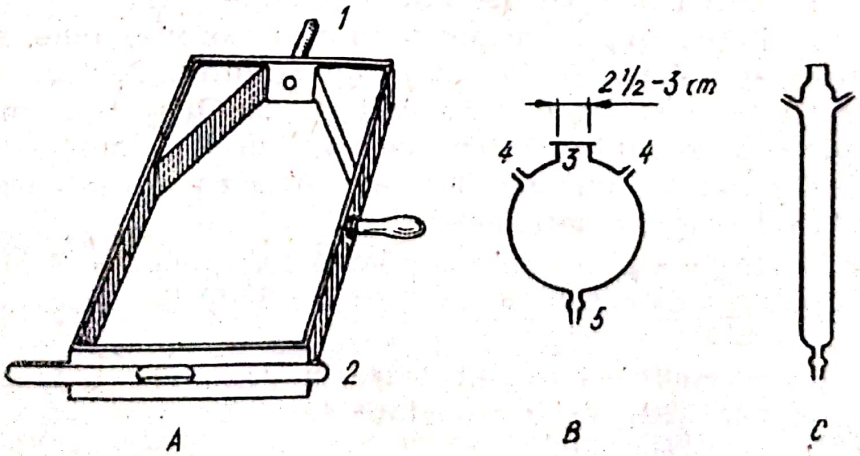


Fig. 98. Diferite tipuri de camere de asimilație (după F. D. Skazkin și colaboratorii).

În partea opusă deschiderii largi se găsește tubul *(5)* prin care iese aerul.

Camera de asimilație *(C)*, de formă cilindrică, se folosește mai ales cînd se determină intensitatea fotosintezei la frunzele gramineelor. Această cameră se construiește dintr-un tub de sticlă. Orientarea tuburilor pentru intrarea și ieșirea aerului se aseamănă cu cea de la camera de asimilație *(B)*.

În camerele *B* și *C*, frunza se introduce prin deschiderea largă și se izolează de aerul înconjurător cu un dop de cauciuc tăiat transversal, iar pețiolul frunzei se fixează între cele două jumătăți ale dopului.

Atunci cînd se cere o precizie mare a determinărilor, în interiorul camerei de asimilație se introduce un termometru de dimensiuni mici, pentru a face corecțiile de temperatură.

Aspiratoarele. Ca aspiratoare se pot folosi vase de sticlă cu tubulură laterală la partea inferioară a vasului. Volumul acestora este de 12 l. Înainte de începerea experienței se introduc în ele 10 l de apă.

Ca absorbant se folosește o soluție de $Ba(OH)_2$ *n/50* (reactivul 38). Probele de 100 ml $Ba(OH)_2$ care se pun în dispozitivul de absorbție se iau cu ajutorul unei biurete de 100 ml sau cu o pipetă de 100 ml, prelungită cu un tub capilar, ca să ajungă pînă la capătul superior al tubului de absorbție.

La începutul experienței se stabilește de fiecare dată titrul soluției de $Ba(OH)_2$ cu HCl *n/50* (reactivul 4 *c*). Pentru titrare se iau 100 ml $Ba(OH)_2$, se adaugă 2 picături de fenolftaleină (reactivul 33) și se titrează cu HCl *n/50* pînă la coloratia roz-desdhis, care trebuie să fie egală în intensitate cu a unei soluții standard (reactivul 68).

Mersul determinării. Se scoate dopul de la partea superioară a tubului de absorbție și se introduc 100 ml $Ba(OH)_2$ *n/50*, după care se acoperă din nou.

Se face legătura cu camera de asimilație, se deschide pensa *1*, iar cînd începe să curgă apa, se deschid și pensele *2* și *3*. Aerul intră în camera de asimilație, apoi în dispozitivul de absorbție, unde, sub formă de bule, trece prin $Ba(OH)_2$, iar CO_2 este absorbit. Pentru ca lichidul să barboteze intens, se adaugă soluției de $Ba(OH)_2$ 1—2 picături de alcool butilic sau izobutilic. Viteza cu care circulă aerul este de 10 l timp de 22—25 minute. Trebuie să avem grijă ca viteza curentului să fie constantă tot timpul determinării.

În același timp cu proba de experiență funcționează și dispozitivul de control. La sfîrșitul determinării se titrează $Ba(OH)_2$ rămas necombinat cu CO_2 cu HCl *n/50*.

Rezultatul determinării se calculează în miligrame CO_2 asimilat de 100 cm^2 de frunză, timp de o oră, după formula:

$$Q = \frac{(a-c)-(a-b)\cdot k\cdot 100\cdot 60}{d\cdot t},$$

în care:

Q este cantitatea de CO_2 asimilat, în mg/h/100 cm^2;

a — numărul de mililitri HCl *n*/50 înmulțit cu factorul acestuia, folosiți pentru neutralizarea a 100 ml $Ba(OH)_2$ înainte de experiență;

b — numărul de mililitri HCl *n*/50 înmulțit cu factorul, folosit pentru neutralizarea a 100 ml $Ba(OH)_2$ după trecerea aerului peste frunza din camera de asimilație;

c — numărul de mililitri HCl *n*/50 înmulțit cu factorul folosit pentru neutralizarea a 100 ml $Ba(OH)_2$ după trecerea aerului prin instalația de control;

d — suprafața frunzei, în cm^2 (v. modul de determinare la experiența nr. 64);

t — durata determinării, în min;

k — cantitatea de CO_2 care corespunde la 1 ml HCl *n*/50 (0,224), în cm^3.

Valoarea lui *k* rezultă din următorul raționament: reacția care are loc între CO_2 și $Ba(OH)_2$ este

$$CO_2 + Ba(OH)_2 = BaCO_3 + H_2O,$$

de unde rezultă că la o moleculă-gram de $Ba(OH)_2$ corespunde o moleculă-gram de CO_2, care ocupă un volum de 22 410 cm^3. Între HCl și $Ba(OH)_2$ are loc reacția:

$$Ba(OH)_2 + 2HCl = BaCl_2 + 2H_2O$$

În acest caz, la o moleculă-gram de HCl corespunde ½ moleculă-gram de $Ba(OH)_2$ și, respectiv, ½ moleculă-gram de CO_2, care ocupă un volum de $\frac{22\,410}{2} = 11\,205$ cm^3 CO_2.

Prin urmare, la o moleculă-gram, care în cazul HCl este egală cu echivalentul-gram al acestuia, corespund 11 205 cm^3 CO_2.

Deoarece însă la titrare se folosește o soluție *n*/50, cantitatea de CO_2 corespunzătoare la 1 000 ml HCl *n*/50 va fi de: $\frac{11\,205}{50} = 224$ cm^3 CO_2, de unde rezultă că la 1 ml HCl *n*/50 va corespunde o cantitate de CO_2 egală cu $\frac{224}{1\,000} = 0{,}224$ cm^3 CO_2.

Experiența nr. 139

DETERMINAREA INTENSITĂȚII FOTOSINTEZEI PRIN METODA CURENTULUI DE AER (DUPĂ N. SĂLĂGEANU)

Dintre aparatele destinate măsurării fotosintezei prin această metodă, dispozitivul imaginat de N. Sălăgeanu este mai potrivit datorită exactității cu care se face determinarea CO_2 (eroarea nedepășind $\pm$ 0,0015 cm^3 CO_2 la litrul de aer).

Scanned with OKEN Scanner

Instalaţia pentru determinarea intensităţii fotosintezei este alcătuită dintr-un dispozitiv pentru crearea unui curent de aer (suflător sau o pompă), o cameră de asimilaţie, un dispozitiv ce conţine $Ba(OH)_2$ pentru absorbţia CO_2, un rezervor de aer din cauciuc şi un manometru care indică presiunea aerului din acest rezervor. Dăm descrierea fiecărei părţi a instalaţiei.

Camera de asimilaţie este o cameră paralelipipedică, cu pereţii din sticlă sau plexiglas, cu dimensiunile de 15 cm × 12 cm × 3 cm. La unul din capete (prin care intră curentul de aer), peretele este mobil. Pe faţa interioară a peretelui mobil este fixată o ramă de plexiglas, pe care este o reţea rară din aţă subţire. Peţiolul frunzei se introduce în crestătura tăiată în peretele mobil, în aşa fel ca limbul să vină în dreptul ramei cu reţea, şi se aşază pe el o altă ramă asemănătoare. Acest lucru permite ca în timpul determinării limbul frunzei să fie întins. În peretele mobil sînt sudate 2 tuburi de sticlă: unul deasupra, iar celălalt sub ramele pe care stă frunza, fapt ce permite trecerea curentului de aer peste ambele feţe ale frunzei.

La capătul opus al camerei sînt sudate 2 tuburi de sticlă prin care iese aerul. Pe acestea se fixează 2 tuburi scurte de cauciuc, care se unesc cu ajutorul unui tub de sticlă în Y. De la tubul în Y, curentul de aer este condus mai departe printr-un singur tub de cauciuc la dispozitivul de absorbţie a CO_2.

Dispozitivul de absorbţie a CO_2 din curentul de aer este alcătuit din 2 plăci transparente de sticlă, cu lungimea de 1 010 mm şi lăţimea de 75 mm. Plăcile sînt lipite în aşa fel ca să rămînă între ele un spaţiu de 1,5 mm grosime, cum se vede în figura 99. Pentru realizarea acestui spaţiu se procedează în felul următor: se aplică pe marginile uneia din cele două plăci de sticlă, de jur împrejur, un tub de cauciuc (tub de ventil), după care se aşază peste ea a doua placă. Cu ajutorul unor vergele transversale prevăzute cu şuruburi cu piuliţe la capete, se apropie plăcile una de alta, prin rotirea piuliţelor. Tubul de cauciuc, turtindu-se, lasă între cele două plăci un spaţiu de 1,5 mm grosime. Între tubul de cauciuc şi marginile plăcilor de sticlă se pune chit de geamuri, pentru ca dispozitivul să fie mai rezistent.

La fiecare extremitate, placa superioară are cîte o perforaţie cu diametrul de 6 mm, în care se fixează cîte un tub de sticlă (*1* şi 2) pentru intrarea şi ieşirea aerului. Dispozitivul de absorbţie se ţine în timpul funcţionării în poziţie înclinată, în aşa fel ca partea prin care intră aerul de la camera de asimilaţie să se găsească mai jos decît extremitatea prin care iese aerul. În principiu, înclinaţia trebuie să fie cu atît mai mare cu cît debitul curentului de aer este mai mare. La un debit de 0,35 l pe minut, extremitatea superioară trebuie să fie cu 10 cm mai ridicată decît extremitatea inferioară.

Pentru a cunoaşte ce cantitate de aer a trecut peste frunză în timpul experienţei, este necesar ca acesta să fie captat după ce a ieşit din dispozitivul de absorbţie.

Aceasta se poate realiza cu ajutorul unor baloane de cauciuc, cu care în timpul umplerii cu aer se creează o presiune. Pentru a şti ce

Scanned with OKEN Scanner

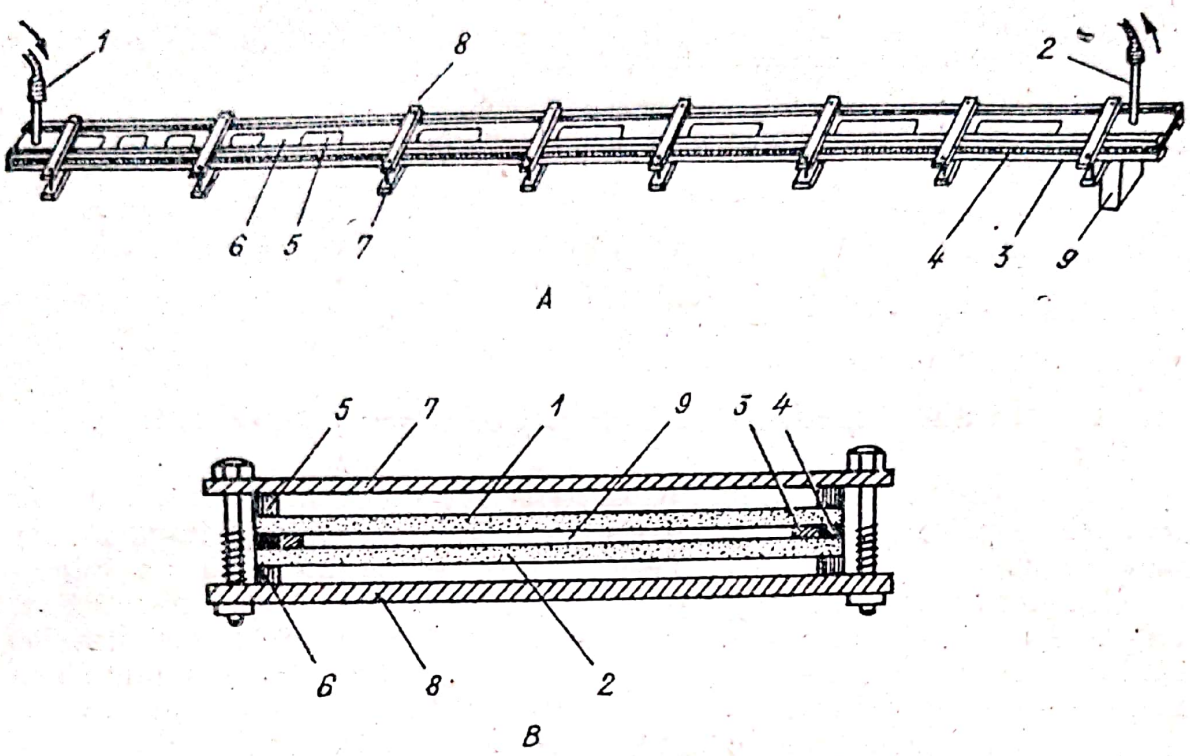


Fig. 99. Dispozitivul de absorbție :

A — vedere de ansamblu : *1* — tub pentru intrarea aerului ; *2* — tub pentru ieșirea aerului ; *3* — placă transparent inferioară ; *4* — placă transparentă superioară ; *5* — bulă de aer ; *6* — soluție de $Ba(OH)_2$; *7* și *8* — vergele transversale de lemn pentru susținerea plăcilor transparente ; *9* — suport pentru menținerea în poziție înclinată a dispozitivului de absorbție.

B — secțiune transversală : *1* — placă transparentă superioară ; *2* — placă transparentă inferioară ; *3* — cadru din tub de cauciuc ; *4* — chit de geamuri ; *5* și *6* — vergele de lemn longitudinale ; *7* și *8* — vergele de lemn transversale fixate cu șuruburi ; *9* — spațiul prin care circulă aerul (după N. Sălăgeanu).

volum are balonul, îl umplem cu aer sub controlul unui manometru. Manometrul este format dintr-un tub de sticlă în formă de U, fixat pe un suport de lemn gradat în centimetri (de la 0—20), de sus în jos în dreptul brațelor. În tubul manometric, care are diametrul de 0,5 cm, se introduce petrol colorat cu puțină eozină, pînă cînd nivelul se ridică la diviziunea 10 în ambele ramuri. Unul din brațele manometrului se pune în legătură prin intermediul unui tub în T cu balonul și cu un suflător electric, care are debitul constant (fig. 100).

După umplerea balonului, notăm gradația la care a coborît lichidul din tubul manometric (de exemplu, pînă la diviziunea 14). Se închide clema tubului care face legătura cu suflătorul și se atașează acest tub cu întregul sistem (manometru, rezervor) la un vas de sticlă a cărui capacitate să fie ceva mai mare decît a balonului.

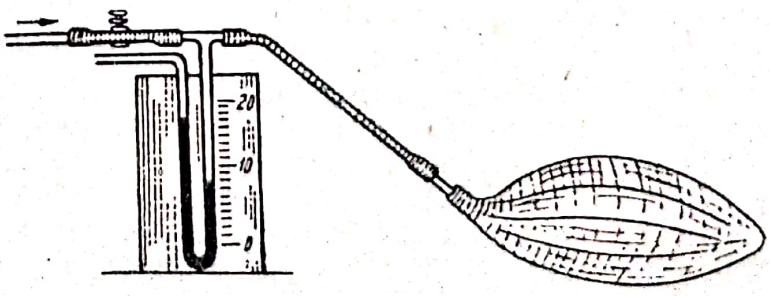


Fig. 100. Schema instalației pentru umplerea balonului de cauciuc cu aer.

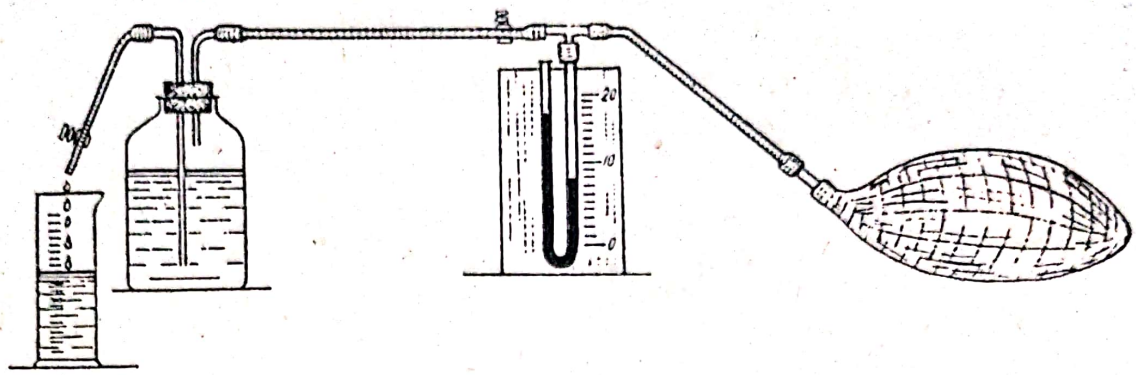


Fig. 101. Schema instalației pentru determinarea volumului de aer din balon.

Prin dopul vasului trec 2 tuburi de sticlă: unul din acestea este scurt și se pune în legătură cu sistemul, iar celălalt este lung, ajunge pînă la fundul vasului, și în prelungirea lui se atașează un tub de cauciuc care merge la un cilindru gradat (fig. 101). Vasul de sticlă și tubul de cauciuc care merge la cilindrul gradat trebuie să fie pline cu apă. Se deschid clemele încet și pe măsură ce aerul trece din balon în vasul de sticlă dezlocuiește un volum egal de apă, ce trece în cilindrul gradat. După ce s-a golit balonul, manometrul revine la diviziunea inițială (diviziunea 10). Volumul de apă măsurat cu cilindrul gradat este egal cu volumul de aer din balonul de cauciuc în momentul cînd acesta a dezvoltat o presiune care a făcut ca lichidul manometric să coboare pînă la diviziunea 14. După ce aflăm volumul balonului, acesta se atașează la dispozitivul de absorbție, prin intermediul manometrului.

Pentru determinarea intensității fotosintezei ne folosim de două dispozitive, unul pentru proba de control, la care nu se atașează camera de asimilație, iar celălalt pentru proba de experiență. Ambele dispozitive se pun în legătură cu suflătorul, printr-un tub în Y.

Modul de lucru. Se introduce o frunză fără să fie desprinsă de pe plantă în camera de asimilație și se etanșează peretele mobil prin acoperire cu plastilină. Prin tubul *1* al celor două dispozitive de absorbție (v. fig. 99, *A*) se introduc cîteva picături de fenolftaleină 1% (reactivul 33) și 25 ml dintr-o soluție de $Ba(OH)_2$ *n*/50 (reactivul 38).

Se pune în funcțiune suflătorul, iar aerul trece prin una din ramificațiile tubului în Y în camera de asimilație, iar prin cealaltă direct în dispozitivul de absorbție de la proba de control. În dispozitivul de absorbție, aerul înaintează sub formă de bule turtite către extremitatea lor mai ridicată (către tubul 2). De aici, printr-un tub de cauciuc, trece la tuburile manometrice și apoi în baloanele de cauciuc.

Se lasă să circule curentul de aer pînă cînd manometrul coboară la diviziunea indicată la calibrarea fiecărui balon.

Cînd se ajunge la această diviziune, se întrerupe curentul de aer în dispozitivul respectiv, închizînd pensa de la tubul de cauciuc, prin care aerul vine de la suflător, și se notează timpul.

În timpul determinării CO_2 din aerul trecut prin cele două dispozitive de absorbție, se va combina cu $Ba(OH)_2$. În dispozitivul legat de

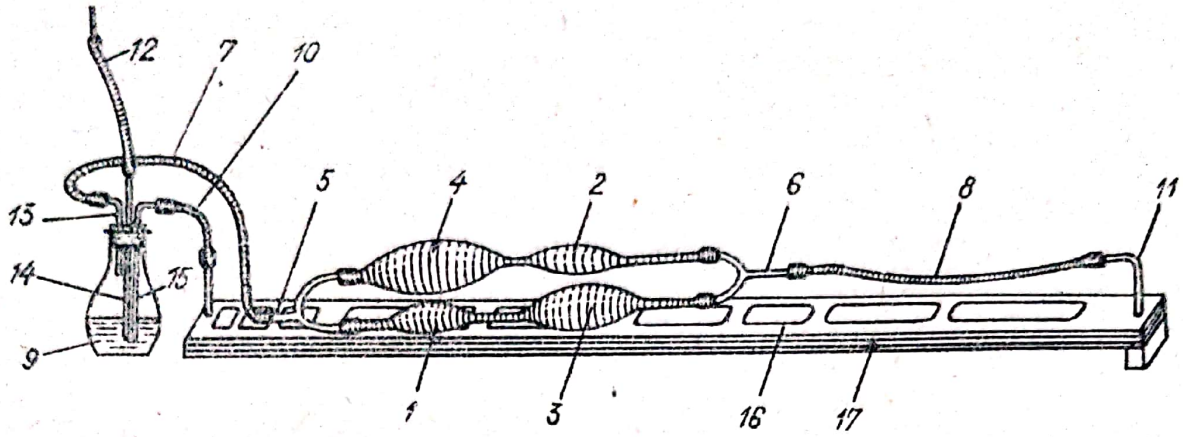


Fig. 102. Dispozitiv pentru titrarea $Ba(OH)_2$ în lipsa contactului cu aerul înconjurător: *1* şi *2* — pere de cauciuc; *3* şi *4* — rezervoarele de cauciuc ale perelor; *5* şi *6* — tuburi în Y; *7*, *8*, *10* şi *11* — tuburi de cauciuc de legătură; *13*, *14* şi *15* — tuburi de sticlă; *9* — vas de titrare; *12* — tub de cauciuc pentru legătura cu microbiureta; *16* — placa transparentă superioară; *17* — placa transparentă inferioară (după N. Sălăgeanu).

camera de asimilaţie, cantitatea de $Ba(OH)_2$ neutralizată va fi mai mică decît în dispozitivul de control, deoarece în timpul experienţei frunza absoarbe o cantitate de CO_2 din aerul trecut peste ea, proporţională cu intensitatea asimilaţiei.

Titrarea excesului de $Ba(OH)_2$ din dispozitivele de absorbţie se poate face în lipsa contactului cu aerul înconjurător, folosind dispozitivul din figura 102. Cu ajutorul perelor de cauciuc *1* şi *2*, prevăzute fiecare cu cîte un rezervor de cauciuc *3* şi *4*, se suflă un curent de aer într-un sens sau altul, după cum se apasă pe para *1* sau *2*. Pentru trecerea soluţiei de $Ba(OH)_2$ din dispozitivul de absorbţie în vasul de titrare *9*, se apasă pe para *1* şi se introduce aer din vasul de titrare *9*, la extremitatea superioară a dispozitivului absorbant prin tubul bifurcat *6*, tubul de legătură *8* şi prin tubul *11*. Soluţia de $Ba(OH)_2$ trece prin tubul de legătură *10* în vasul de titrare. Acesta este închis cu un dop de cauciuc prin care trec 3 tuburi de sticlă: tubul *15* (lung) pus în legătură cu tubul *10*, tubul *14* (lung) pus în legătură cu microbiureta prin intermediul tubului de cauciuc *12* şi tubul *13*, care se pune în legătură cu tubul în Y *5*, prin intermediul tubului de cauciuc *7*.

Titrarea se face cu HCl *n*/50 (reactivul 4 *c*) din microbiuretă prin tubul de legătură *12*, care are diametrul de 1 mm. Cînd soluţia ajunge la o culoare roz, se trece din nou soluţia în sistemul absorbant, apăsînd de data aceasta pe para de cauciuc 2. Aerul va trece prin rezervorul *4* şi tubul de legătură *7* în vasul de titrare *9*, împingînd soluţia din acest vas prin tubul *10* pînă aproape de extremitatea superioară a dispozitivului. În acest fel se spală pereţii dispozitivului de absorbţie şi după aceasta se readuce soluţia la titrat în vasul *9*, apăsînd pe para *1*. Se continuă titrarea, pînă cînd soluţia ajunge din nou la culoarea roz. După aceasta, se repetă succesiv spălarea şi titrarea, pînă cînd culoarea soluţiei ajunge să fie identică cu cea a soluţiei standard (reactivul 68).

Această soluţie etalon se păstrează într-un vas închis ermetic, care trebuie să aibă forma şi dimensiunile vasului de titrare *9*.

Scanned with OKEN Scanner

După terminarea titrării soluției de $Ba(OH)_2$ din primul dispozitiv de absorbție, se golește vasul de titrare *9* prin tubul *15*, după ce în prealabil s-au desfăcut tuburile de legătură *7* și *10*. După aceasta, se leagă vasul de titrare 9 împreună cu perele de cauciuc la celălalt dispozitiv și se titrează soluția de $Ba(OH)_2$ din interiorul lui, procedînd ca în cazul precedent.

Cînd se termină titrările, se scoate frunza din camera de asimilație și i se determină suprafața după procedeul descris la experiența nr. 64.

Calculul rezultatelor. Pentru a calcula cantitatea de CO_2 absorbită de frunză este necesar să se cunoască cît CO_2 s-a găsit în aerul trecut în timpul determinării prin dispozitivul de control. În acest scop se introduce într-unul din dispozitivele de absorbție o cantitate de 25 ml $Ba(OH)_2$, care se titrează apoi după procedeul descris anterior. Aceasta este proba oarbă.

Să presupunem că la titrarea probei oarbe s-au folosit 26,41 ml HCl, iar pentru proba de control 18,40; aceste valori se înmulțesc cu factorul soluției (de exemplu, 1,0980) și se obține: $26{,}41 \times 1{,}0980 = 28{,}99$ ml HCl *n*/50; pentru proba de control: $18{,}4 \times 1{,}0980 = 20{,}20$ ml HCl *n*/50.

Făcînd diferența dintre aceste valori, aflăm cantitatea de $Ba(OH)_2$, exprimată în mililitri HCl *n*/50, care s-a combinat cu CO_2 conținut în cei 6 l de aer cîți au fost în timpul experienței în balonul de cauciuc adaptat la dispozitivul de absorbție al probei de control. În cazul nostru, această diferență este: $28{,}99 - 20{,}20 = 8{,}79$ ml. Se împarte rezultatul obținut la 6, pentru a cunoaște cantitatea de $Ba(OH)_2$ care s-a combinat cu CO_2 dintr-un litru de aer: $8{,}79 : 6 = 1{,}46$ ml.

Știind că la 1 ml HCl *n*/50 corespund 0,224 cm^3 CO_2, se calculează cantitatea de CO_2 care s-a găsit într-un litru de aer:

$$0{,}224 \times 1{,}46 = 0{,}327 \text{ cm}^3 \text{ CO}_2\text{/l aer.}$$

După aceea, se calculează cantitatea de CO_2 care a rămas în aerul ce a trecut prin camera de asimilație.

Dacă pentru titrarea probei de experiență s-au folosit $20{,}60 \times 1{,}0980 = 22{,}61$ ml HCl *n*/50, atunci cantitatea de CO_2 din aerul trecut peste frunză se află făcînd diferența dintre valoarea obținută la titrarea probei oarbe și cea de la titrarea probei de experiență: $28{,}99 - 22{,}61 = 6{,}38$ ml.

Întrucît volumul de aer trecut peste frunză a fost și în acest caz de 6 l, se împarte la 6 valoarea găsită: $6{,}38 : 6 = 1{,}06$ ml. În acest caz, cantitatea de CO_2 rămas într-un litru de aer trecut peste frunză va fi de: $1{,}06 \times 0{,}224 = 0{,}237$ cm^3 CO_2/l aer.

Cantitatea de CO_2 asimilat de frunză în timpul determinării se află făcînd diferența între CO_2 conținut în aerul trecut prin dispozitivul de control (0,327 cm^3 CO_2/l) și cel din aerul care a trecut peste frunză (0,237 cm^3/l).

Vom avea: $0{,}327 - 0{,}237 = 0{,}090$ cm^3 CO_2.

Scanned with OKEN Scanner

Întrucît în timpul determinării prin camera de asimilație a trecut un volum de 6 l de aer, cantitatea totală de CO_2 asimilat de frunză va fi: $0{,}090 \times 6 = 0{,}540$ cm^3 CO_2.

Cunoscînd durata determinării, se calculează cantitatea de CO_2 asimilat într-o oră, după formula:

$$\text{cm}^3\ CO_2/\text{h} = \frac{a \times 60}{t}$$

în care:

a este cantitatea de CO_2 absorbită de frunză în timpul experienței, în cm^3 (în cazul nostru 0,540 cm^3 CO_2);

t — durata determinării, în min (20 minute în experiența noastră).

Vom avea deci: $\frac{0{,}540 \times 60}{20} = 1{,}620$ cm^3 CO_2/h.

Cunoscînd suprafața frunzei (de exemplu, 0,32 dm^2), se calculează cantitatea de CO_2 asimilat de o suprafață foliară de 1 dm^2, cu ajutorul unei reguli de trei simplă:

Dacă 0,32 dm^2 au asimilat 1,620 cm^3 CO_2/h

1 dm^2 va asimila . . . x

$$x = \frac{1 \times 1{,}620}{0{,}32} = 5{,}062 \text{ cm}^3\ CO_2/\text{dm}^2/\text{h}$$

Deci intensitatea fotosintezei este egală cu 5,062 cm^3 CO_2/dm^2/h.

Experiența nr. 140

DETERMINAREA INTENSITĂȚII FOTOSINTEZEI LA PLANTELE SUBMERSE PRIN METODA MANOMETRICĂ WARBURG

Metoda se bazează pe determinarea manometrică a volumului de oxigen degajat în fotosinteză, menținînd constantă concentrația bioxidului de carbon, cu ajutorul unei soluții-tampon Warburg.

Pentru determinarea intensității fotosintezei se folosește instalația Warburg, a cărei descriere este dată în anexa I.

Iluminarea plantelor din vasele de reacție, care servesc drept camere de asimilație, se face cu ajutorul unui dispozitiv ce se află sub baia de apă. Dispozitivul se compune dintr-o cutie paralelipipedică din masă plastică, cu dimensiunile de 35 cm × 20 cm × 10 cm, pe fundul căreia sînt 15 orificii în care se fixează etanș, cu ajutorul unor inele de cauciuc, cîte un bec electric de 75 W, în așa fel ca partea de sticlă a becurilor să fie în interiorul cutiei, iar montura metalică — în afară și în partea de jos a acesteia. Becurile se leagă în serie și se pun în legătură cu sursa de curent.

Pentru a evita supraîncălzirea, în cutia de masă plastică în care se găsesc becurile trece încontinuu un curent de apă rece, care le acoperă în întregime.

Scanned with OKEN Scanner

Modul de lucru. Se pun în vasul de reacţie (camera de asimilaţie) 5 ml din mediul de cultură cu alge sau alte plante acvatice. iar în păhărelul central sau în diverticulul lateral se pune 1 ml de soluţie din una dintre soluţiile-tampon Warburg (reactivul 66), de exemplu soluţia nr. 6.

Se ataşează vasul de reacţie la manometrul cu robinetul deschis şi se fixează la cadrul metalic al instalaţiei, lăsîndu-l în repaus 15 minute, pentru a lua temperatura băii. Se procedează la fel cu o altă garnitură (vas-manometru), după ce s-a introdus în prealabil în păhărelul central sau diverticulul lateral al vasului 1 ml de soluţie-tampon, iar în locul celor 5 ml de mediu de cultură, 5 ml de apă distilată.

După trecerea celor 15 minute, se aduce nivelul lichidului manometric la punctul zero ales (de exemplu, diviziunea 150 mm), se închid robinetele şi din acest moment începe determinarea intensităţii fotosintezei.

În procesul fotosintezei, plantele vor absorbi CO_2 şi vor elimina O_2. Concentraţia CO_2 se menţine constantă datorită soluţiei-tampon, iar O_2 eliminat va face să coboare lichidul din ramura stîngă a manometrului şi să urce în ramura dreaptă. După trecerea unui interval de timp (10—20—30 minute, în funcţie de intensitatea fotosintezei), se opreşte agitarea şi se aduce lichidul din ramura stîngă a manometrului la punctul zero stabilit iniţial, iar în ramura dreaptă se citeşte variaţia de presiune.

Aflarea constantei aparatului (volumul de oxigen corespunzător devierii citite) se face după modul descris în anexa I sau aşa cum este descris la experienţa nr. 141.

Formula pentru calcularea intensităţii fotosintezei este următoarea:

$$\frac{a \times 60}{t \times g} = \text{cm}^3\ O_2/1\ \text{g/h},$$

în care:

a este cantitatea de oxigen degajată în timpul experienţei;

t — timpul de experienţă, în min;

g — greutatea uscată a materialului de experienţă în g.

Aflarea greutăţii uscate în cazul cînd se experimentează cu suspensii de alge se face astfel: după terminarea determinării, se iau cei 5 ml de mediu de cultură din vasele de asimilaţie, se pun într-o eprubetă şi se centrifughează; după aceea se înlătură lichidul de deasupra, se toarnă puţină apă distilată, se agită şi centrifughează din nou. Această spălare trebuie repetată de cîteva ori. După aceea, se trece cantitativ sedimentul într-o fiolă de cîntărit cu greutate cunoscută şi se usucă algele la greutate constantă într-un termostat la 100—105°C.

Greutatea algelor se află scăzînd din greutatea fiolei cu alge greutatea ei iniţială.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 141

DETERMINAREA INTENSITĂŢII FOTOSINTEZEI LA FRUNZELE PLANTELOR AERIENE PRIN METODA MANOMETRICĂ (DUPĂ N. SĂLĂGEANU)

Această metodă reprezintă o modificare a metodei manometrice Warburg, pentru măsurarea intensităţii fotosintezei frunzelor plantelor aeriene. Modificarea adusă prezintă avantajul că difuziunea gazelor în aer are loc cu o viteză mult mai mare decît în apă şi că repartizarea gazelor între faza lichidă şi cea gazoasă se realizează cu atît mai repede cu cît suprafaţa de contact este mai mare.

Pentru determinarea intensităţii fotosintezei se foloseşte instalaţia Warburg, la manometrele căreia se ataşează vasele de asimilaţie, ce constau din baloane Erlenmeyer cu tubulură laterală. Vasele de asimilaţie se ataşează direct la manometrele Warburg atunci cînd iluminarea se face de jos (fig. 103), iar cînd iluminarea se face de sus — prin intermediul unui capilar îndoit în formă de U, ale cărui capete sînt şlefuite pentru adaptarea la manometru şi la vasul de asimilaţie (fig. 104).

Se introduce frunza cu o suprafaţă de aproximativ 1,5 cm^2 sau o rondelă de frunză pe fundul balonului, orientată astfel încît suprafaţa

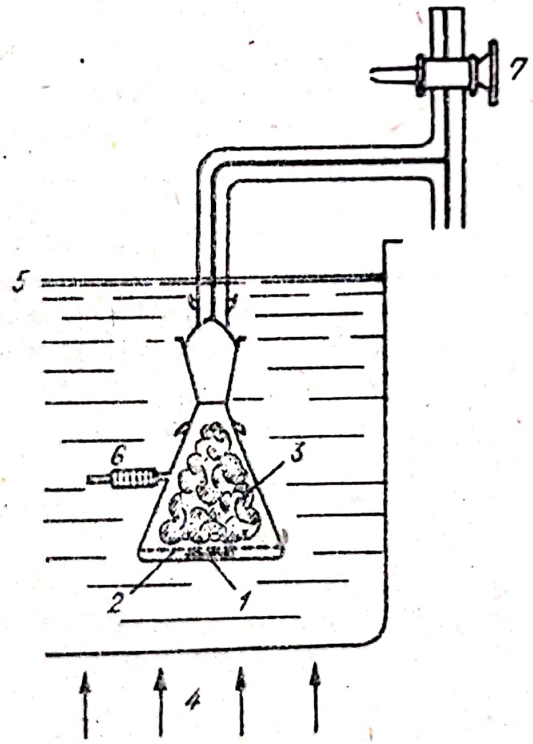


Fig. 103. Modul de ataşare a vasului de asimilaţie la manometru, cînd iluminarea se face de jos:

1 — frunza; *2* — sită de material plastic; *3* — vată îmbibată cu soluţie-tampon Warburg; *4* — direcţia razelor de lumină; *5* — nivelul apei în baia termostat; *6* — tubulura laterală a vasului de asimilaţie; *7* — manometru (după N. Sălăgeanu).

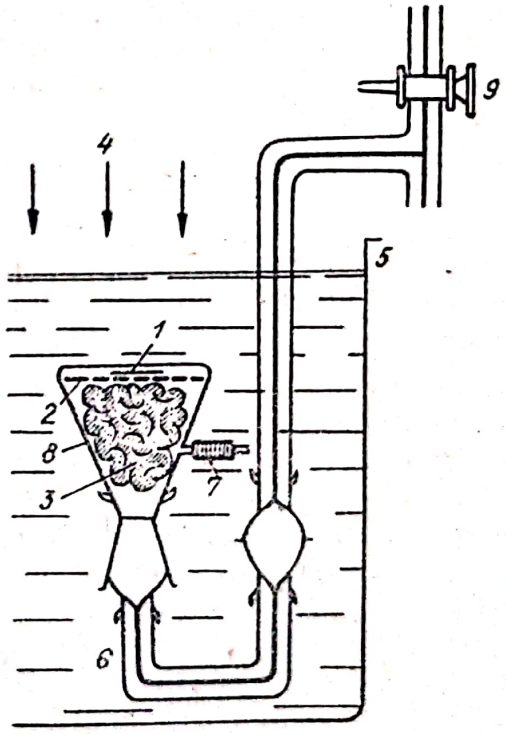


Fig. 104. Modul de ataşare a vasului de asimilaţie la manometru, cînd iluminarea se face de sus:

1 — frunza; *2* — sită de material plastic; *3* — vată îmbibată cu soluţie-tampon Warburg; *4* — direcţia razelor de lumină; *5* — nivelul apei în baia termostat; *6* — tubul în formă de U, care leagă vasul de asimilaţie de manometru; *7* — tubulura laterală a vasului de asimilaţie; *8* — vasul de asimilaţie; *9* — manometru (după N. Sălăgeanu)

superioară să fie spre sursa de lumină. Peste frunză se așază o sită de material plastic, iar deasupra acesteia se pun 1,5 g de vată hidrofilă și se atașează vasul de asimilație la manometru. După aceea se îmbibă vata cu soluție-tampon Warburg nr. 6 (reactivul 66). Soluția-tampon se introduce dintr-o pipetă care este pusă în legătură cu tubulura laterală a vasului de asimilație printr-un tub scurt de cauciuc. În acest timp, vasul de asimilație se ține înclinat, ca în figura 105, pentru ca soluția-tampon să nu vină în contact cu frunza. Se scoate apoi pipeta, se închide tubulura laterală cu o baghetă de sticlă și se scufundă vasul de asimilație în baia de apă. Se pregătește la fel, dar fără frunză, un termobarometru pentru corecțiile de temperatură și presiune. Soluția-tampon Warburg fiind un amestec în anumite proporții dintr-o soluție de $NaHCO_3$ și alta de Na_2CO_3, în vas se realizează o atmosferă în care concentrația CO_2 se menține constantă, după reacția:

$$2NaHCO_3 \rightleftharpoons Na_2CO_3 + CO_2 + H_2O$$

Îmbibînd vata hidrofilă cu soluție-tampon Warburg, se realizează o mărire considerabilă a suprafeței de difuziune și, avînd în vedere viteza mare de difuziune a gazelor în gaze, echilibrul între faza lichidă și cea gazoasă se realizează repede, astfel încît agitarea vaselor nu mai este necesară.

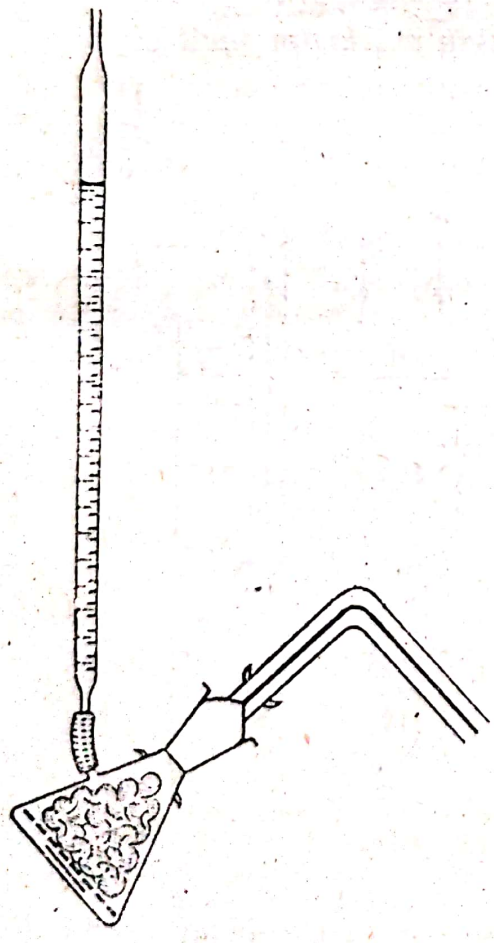


Fig. 105. Modul de îmbibare a vatei hidrofile din vasul de asimilație cu soluția-tampon Warburg (după N. Sălăgeanu).

Pentru iluminarea frunzelor în timpul experienței se folosesc becuri electrice situate într-o baie prin care trece un curent de apă, pentru a evita ridicarea temperaturii. Baia de apă cu becurile poate fi plasată sub baia de apă a instalației Warburg, iluminînd frunza de jos în sus, sau deasupra acesteia, în care caz lumina vine de sus în jos.

După ce vasele de asimilație au stat 15 minute în baia de apă pentru a lua temperatura acesteia, se poate începe determinarea intensității fotosintezei, închizînd robinetele manometrelor, după ce în prealabil s-a adus lichidul manometric la punctul zero ales (de exemplu, diviziunea 150 mm).

Datorită faptului că prin această metodă nu este necesară agitarea manometrelor Warburg, se pot face determinări și în condiții de teren. Vasele de asimilație se introduc în acest caz într-o baie de aluminiu cu lungimea de 25 cm, lățimea de 10 cm și înălțimea de 10 cm, plin cu apă.

Scanned with OKEN Scanner

Temperatura apei din baie se menține cu ajutorul unui termoregulator introdus în circuitul unui curent electric produs de 6 baterii electrice pentru lanternă de buzunar legate în serie sau de un acumulator. În același circuit se intercalează o rezistență de încălzire scufundată în apă. Agitarea apei se face cu un micromotor electric, pus în mișcare de o baterie a unei lanterne de buzunar.

Cînd determinările se fac în plin soare, pereții exteriori ai băii de aluminiu se acoperă cu pînză umezită, pentru a evita ridicarea temperaturii. În același scop se acoperă baia cu un carton prevăzut cu orificii cu diametrul de 4 cm în dreptul vaselor de asimilație, prin care pătrund razele de soare la frunzele din vasele de asimilație.

În cazul în care experiența se efectuează pe timp noros sau la umbră, aceste măsuri nu mai sînt necesare.

În timpul experienței, concentrația CO_2 rămîne constantă; planta producînd O_2 în procesul fotosintezei, acesta va apăsa asupra lichidului manometric, care va coborî în ramura stîngă a manometrului ce poartă vasul de asimilație și va urca în ramura dreaptă. După trecerea intervalului de timp determinat, se aduce, cu ajutorul clemei cu șurub de la rezervorul manometric, lichidul din ramura stîngă a manometrului pînă la punctul zero (de obicei se alege diviziunea 150 ca punct zero). Se citește apoi variația de presiune pe brațul drept de la ambele manometre. De exemplu, la manometrul la care este atașată camera de asimilație, lichidul s-a ridicat de la 150 la 190, adică 40 de diviziuni. La termobarometru, a coborît de la 150 la 148. Adăugînd aceste diviziuni la devierea de la manometrul de experiență, se obține devierea reală: $40 + 2 = 42$. (Cînd lichidul de la termobarometru urcă peste punctul zero ales, diviziunile se scad din devierea de la manometrul de experiență, iar cînd acesta coboară, se adună.)

Pentru a ști ce volum de O_2 corespunde devierii reale, trebuie să se afle constanta aparatului (v. anexa I). Constanta se poate afla și printr-un procedeu mai simplu, folosindu-ne de o micropipetă ce are la partea inferioară un rezervor cu mercur (un tub de cauciuc astupat la capăt). Rezervorul este prevăzut cu o pensă cu șurub, cu ajutorul căreia putem strînge sau lărgi rezervorul. Se aduce lichidul manometric la punctul zero (diviziunea 150) și se atașează la ramura stîngă un tub de cauciuc pus în legătură cu micropipeta. Presăm cu ajutorul pensei cu șurub mercurul din rezervorul micropipetei, pînă cînd înaintează în pipetă cu 0,1 cm^3; prin aceasta am introdus în tubul manometric 0,1 cm^3 de aer. Observînd cu cîte diviziuni se deplasează lichidul manometric, se poate afla printr-o regulă de trei simplă cantitatea de oxigen corespunzătoare devierii reale. Dacă prin presarea a 0,1 cm^3 de aer lichidul s-a deplasat cu 21 de diviziuni, atunci pentru deplasarea cu 42 de diviziuni vom avea:

$$\frac{42 \times 0{,}1}{21} = 0{,}2 \text{ cm}^3 \text{ O}_2$$

Scanned with OKEN Scanner

Cunoscînd cantitatea de oxigen degajată a (în cazul nostru 0,2 cm^3), timpul de experienţă, în minute, t şi suprafaţa frunzei în centimetri pătraţi, s, se poate calcula intensitatea fotosintezei în centimetri cubi de O_2, degajat de 100 cm^2 de frunză în timp de o oră, după formula:

$$\frac{a \times 60 \times 100}{t \times s} = cm^3\ O_2/1\ dm^2/h.$$

Experienţa nr. 142

DETERMINAREA INTENSITĂŢII FOTOSINTEZEI CU AJUTORUL IZOTOPILOR RADIOACTIVI

Metoda se bazează pe determinarea radioactivităţii C^{14}, asimilat de frunză sub formă de $C^{14}O_2$ într-un anumit timp. Cunoscînd radioactivitatea $C^{14}O_2$ dintr-un spaţiu delimitat şi radioactivitatea frunzelor ce au absorbit $C^{14}O_2$ din acest spaţiu, se poate determina cantitatea de $C^{14}O_2$ folosit în fotosinteză. Punerea în evidenţă a C^{14} asimilat de frunze se poate face fie cu ajutorul contorului Geiger—Müller de numărare a impulsurilor, fie prin radioautogramă.

Metoda izotopilor radioactivi este folosită din ce în ce mai mult în studiul fotosintezei, deoarece este o metodă foarte sensibilă, permiţînd determinarea intensităţii acestui proces fiziologic la frunze mici de 2—3 cm^2, într-un interval de timp scurt. Totodată, ea oferă posibilitatea cercetărilor pe teren, întrucît radiaţiile C^{14} din frunze se pot determina ulterior în laborator, la frunzele uscate, fără o scădere simţitoare a intensităţii radiaţiilor, deoarece C^{14} are o perioadă de înjumătăţire a radiaţiilor emise de aproape 6 000 de ani.

În experienţele cu izotopi radioactivi trebuie respectate anumite măsuri, menite să asigure atît securitatea celui care experimentează cît şi a persoanelor din jur. Pentru aceasta, este necesar ca cel care foloseşte metoda să fie îmbrăcat cu halat închis la gît, peste care se pune un şorţ de cauciuc, şi va purta mănuşi chirurgicale şi încălţăminte din cauciuc.

Camera în care se experimentează trebuie să aibă pereţii vopsiţi în ulei, iar pe duşumea linoleum, pentru a putea fi curăţită uşor. O altă măsură de securitate prevede ca soluţiile rămase de la experienţă să se colecteze într-o sticlă bine închisă şi împreună cu celelalte deşeuri (vată, hîrtie de filtru etc.) să fie puse într-o pungă de masă plastică şi predate Institutului de fizică atomică.

Pentru determinarea intensităţii fotosintezei se poate folosi instalaţia utilizată de N. Sălăgeanu şi G. Galan-Fabian, a cărei descriere o dăm în continuare:

Scanned with OKEN Scanner

Instalaţia se compune dintr-un rezervor de gaz *(A)* în care are loc producerea $C^{14}O_2$, dintr-o pară de cauciuc *(P)* pentru pomparea gazului şi dintr-o cameră de asimilaţie *(C)* în care se găseşte frunza a cărei intensitate a fotosintezei vrem s-o aflăm (fig. 106).

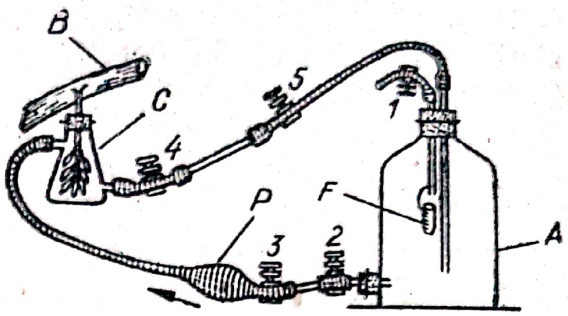


Fig. 106. Instalaţia pentru determinarea intensităţii fotosintezei cu $C^{14}O_2$:

A — rezervor de gaz; *B* — ramură cu frunze; *C* — cameră de asimilaţie; *F* — fiolă cu $BaCO_3$ şi $BaC^{14}O_3$; *P* — pară de cauciuc; *1, 2, 3, 4* şi *5* — pense (după N. Sălăgeanu şi G. Galan-Fabian).

Ca rezervor de gaz poate fi folosit un vas de sticlă cu capacitatea de aproximativ 9 l, ce are o tubulură laterală la partea inferioară. La partea superioară, vasul se închide cu un dop de cauciuc, prin care pătrund în interior două tuburi de sticlă: unul lung, care ajunge pînă aproape de fundul sticlei şi la care este ataşat tubul de cauciuc ce vine de la camera de asimilaţie, şi un altul mai scurt, de care este prinsă o fiolă de sticlă. În fiolă se pune substanţa ce serveşte la producerea $C^{14}O_2$, care în experienţa citată a constat dintr-un amestec format din 0,8250 g $BaCO_3$ şi 0,0157 g $BaC^{14}O_3$, pentru a se realiza o concentraţie de 0,1% $C^{14}O_2$ şi CO_2.

La capătul superior al tubului scurt de sticlă se găseşte un tub de cauciuc, ce se închide cu o pensă (1). De la tubulura laterală a rezervorului porneşte un tub de cauciuc prevăzut cu două pense (2 şi 3) la para de cauciuc *(P)* ce pompează gazul din rezervor spre camera de asimilaţie *(C)*. Drept cameră de asimilaţie poate folosi un balon Erlenmeyer cu două tubuluri laterale: una la partea superioară, prin care vine gazul de la pompă, şi a doua la partea inferioară, prin care gazul merge din nou la rezervor, printr-un tub de cauciuc cu două pense (*4* şi 5). Între pensele *2* şi *3* şi *4* şi 5 se intercalează cîte un tub de sticlă. La partea superioară, balonul Erlenmeyer se închide cu un dop de cauciuc secţionat longitudinal, în care stă peţiolul frunzei.

După ce s-a introdus frunza în camera de asimilaţie şi s-au făcut toate legăturile, se ia o pipetă cu HCl 20% (reactivul 4 e), al cărei vîrf este prelungit cu un tub capilar; se introduce capilarul prin tubul scurt de sticlă al rezervorului, pînă cînd acesta ajunge deasupra fiolei cu $BaCO_3$ şi $BaC^{14}O_3$. Se dă drumul apoi picătură cu picătură cantităţii necesare de HCl ca să reacţioneze cu toată substanţa din fiolă. Se scoate tubul capilar şi se închide tubul scurt al rezervorului cu pensa *1*.

Din acest moment începe determinarea, apăsînd uniform para de cauciuc, pentru a trece un curent de gaz prin camera de asimilaţie.

După 30—60 minute se întrerupe experienţa, închizînd toate pensele. După aceea se captează gazul rămas în para de cauciuc şi în camera de asimilaţie, procedînd astfel: se desprind tuburile dintre

Scanned with OKEN Scanner

pensele 2 și 3 și 4 și 5, pentru a izola rezervorul de gaz. Se introduce tubul care vine de la camera de asimilație într-un Erlenmeyer cu $Ba(OH)_2$ colorat cu fenolftaleină 1% (reactivul 33), se deschid pensele 3 și 4 și se pompează pentru ca CO_2 rămas în instalație să reacționeze cu $Ba(OH)_2$. Se procedează apoi la fel cu rezervorul de gaz. Vasul cu $Ba(OH)_2$ se păstrează bine închis, spre a fi predat cu celelalte deșeuri Institutului de fizică atomică.

Se scoate cu o pensă frunza din camera de asimilație și se fixează în vapori de cloroform. Fixarea se face suspendînd frunza de dopul unui borcan de sticlă, pe fundul căruia se găsește o bucată de vată înmuiată în cloroform. Frunza se ține în vapori de cloroform aproximativ 30 minute (pînă cînd capătă o culoare galbenă) și apoi se scoate și se usucă între două bucăți de hîrtie de filtru.

Pentru a afla cantitatea de $C^{14}O_2$ fixat de frunză în procesul fotosintezei, se ia frunza uscată și se triturează în mojar, iar pudra obținută se pune pe un disc metalic și se presează cu un tampon, pentru a se forma un strat uniform și neted. În timpul triturării și al celorlalte operații executate cu pudra obținută din frunză, cercetătorul trebuie să poarte o mască de tifon la gură și nas, pentru a nu inspira particulele de praf. Se pune apoi placa metalică cu pudra sub contorul Geiger—Müller și se determină numărul de impulsuri pe minut.

În cazul cînd vrem să studiem localizarea produșilor fotosintezei în frunze, se face radioautograma frunzei, procedînd astfel: se trece frunza uscată într-o cameră obscură și se așază peste ea un film Röentgen. Frunza împreună cu filmul se pun între două plăci de sticlă, se învelesc cu hîrtie neagră și se țin într-o cutie metalică pentru impresionarea filmului. Timpul necesar impresionării peliculei depinde de radioactivitatea frunzei: cu cît frunza este mai radioactivă, impresionarea se face într-un timp mai scurt.

Se scoate apoi filmul, se developează și se fixează obișnuit. Locurile în care s-a acumulat substanța organică cu C^{14} vor apărea pe negativ în negru. Dacă la developare nu apar pete negre, înseamnă că frunza este puțin radioactivă și atunci trebuie expusă pe un alt film un timp mai îndelungat.

3. INFLUENȚA FACTORILOR EXTERNI ASUPRA FOTOSINTEZEI

Dintre factorii externi care exercită o influență mai mare asupra fotosintezei sînt: intensitatea luminii și compoziția ei spectrală, temperatura și bioxidul de carbon. Asupra procesului fotosintezei mai au influență și anestezicii. Pentru studiul influenței acestor factori ne folosim de metoda bulelor, fiind o metodă simplă și ușor accesibilă.

Experienţa nr. 143

INFLUENŢA INTENSITĂŢII LUMINII ASUPRA FOTOSINTEZEI

Se ia o eprubetă cu apă de conductă, în care se introduce o ramură de *Elodea canadensis* cu vîrful în jos. Partea bazală a ramurii se secţionează oblic şi nu trebuie să atingă pereţii eprubetei.

Pentru a varia intensitatea luminii se aşază eprubeta cu planta la diferite distanţe (30, 60, 90 cm) de sursa de lumină (un bec electric de 100—150 W) şi se numără bulele de gaz ce se degajă în decurs de un minut.

Determinările se fac în felul următor: se ţine întîi eprubeta la distanţa de 30 cm de sursa de lumină şi se notează numărul de bule degajate de plantă în timp de un minut, după ce am controlat în prealabil, prin cîteva numărători succesive, că acesta a devenit constant. Se procedează în mod identic pentru distanţele de 60 şi 90 cm, care corespund unor intensităţi de lumină mai mici.

Se constată că pe măsură ce ne depărtăm de sursa de lumină intensitatea fotosintezei scade, fapt ce rezultă din micşorarea numărului de bule degajate pe minut. În cazul folosirii unui bec de 150 W s-au obţinut următoarele rezultate (tabelul 8).

Tabelul 8

Date referitoare la influenţa intensităţii luminii asupra fotosintezei

Distanţa faţă de sursa de lumină, în cm	Intensitatea luminii, în lucşi	Numărul de bule degajate pe minut
30	4 300	52 52 52
60	1 000	21 21 21
90	400	7 7 7

Experienţa nr. 144

INFLUENŢA DIFERITELOR RADIAŢII ALE SPECTRULUI SOLAR ASUPRA INTENSITĂŢII FOTOSINTEZEI

Pentru a studia influenţa diferitelor radiaţii, ne folosim de plăci de sticlă colorată sau, în lipsa acestora, de bucăţi de celuloid sau celofan de diferite culori (roşu, verde, albastru).

Scanned with OKEN Scanner

Se fixează într-un stativ eprubeta cu ramura de *Elodea* la o distanţă oarecare de becul electric şi se aşteaptă pînă se degajă un număr constant de bule de gaz pe minut.

Se pune apoi în faţa eprubetei o placă de sticlă de culoare roşie şi se aşteaptă pînă se degajă un număr constant de bule pe minut. Se notează rezultatul obţinut şi se îndepărtează apoi sticla colorată, numărînd din nou bulele care se degajă la lumina becului, pentru a verifica dacă planta degajă numărul iniţial de bule. În cazul cînd planta degajă un număr diferit de bule de cel de la începutul experienţei, se aşteaptă pînă cînd intensitatea degajării bulelor revine la valoarea iniţială. După aceea, se intercalează între plantă şi sursa de lumină sticla de culoare verde şi apoi cea albastră, după ce în prealabil ne-am convins că în lumina directă a becului planta degajă un număr de bule egal cu cel iniţial. Se va constata că în lumina roşie numărul de bule degajate este mai mare ca în lumina verde. În lumina albastră, numărul lor va creşte din nou, fără să ajungă la valoarea obţinută în lumina roşie.

Rezultatele se pot reprezenta grafic punînd pe ordonată numărul de bule degajate pe minut, iar pe abscisă radiaţiile în ordinea descrescîndă a lungimii de undă. Rezultatele experienţelor noastre sînt trecute în figura 107.

Experienţa se mai poate efectua şi cu soluţii colorate. Pentru a studia influenţa radiaţiilor roşii asupra intensităţii fotosintezei, folosim o soluţie de 1% $K_2Cr_2O_7$, care absoarbe radiaţiile albastre-violete şi lasă să treacă radiaţiile roşii, iar pentru studiul influenţei radiaţiilor albastre-violete folosim o soluţie de 4% $CuSO_4$ saturată cu hidroxid de amoniu pînă se obţine coloraţia albastră-violetă. Soluţiile colorate se pun în cilindri largi de sticlă. Pentru experienţă avem nevoie de trei cilindri: în primul se pune apă, în al doilea soluţia de $K_2Cr_2O_7$, iar în al treilea soluţia de $CuSO_4$. Eprubeta cu ramura de *Elodea* se introduce în primul cilindru care conţine apă şi se aşteaptă pînă se degajă un număr constant de bule pe minut. După aceea se introduce eprubeta în soluţia de $K_2Cr_2O_7$; se aşteaptă iarăşi pînă se degajă un număr constant de bule şi după numărarea bulelor se trece din nou în cilindrul cu apă şi apoi în cilindrul cu soluţia de $CuSO_4$. Trebuie să avem grijă ca în cazul soluţiilor colorate partea superioară a eprubetei să fie deasupra lichidului colorat, pentru a putea vedea bulele care se degajă.

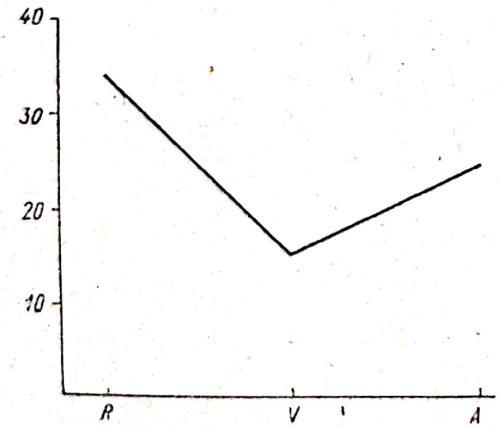


Fig. 107. Influenţa diferitelor radiaţii ale spectrului solar asupra intensităţii fotosintezei. Pe abscisă sînt reprezentate radiaţiile monocromatice (*R* — lumină roşie; *V* — lumină verde; *A* — lumină albastră), iar pe ordonată, numărul de bule degajate pe minut.

Experienţa nr. 145

NECESITATEA CO_2 IN FOTOSINTEZA

Într-o eprubetă cu o ramură de *Elodea* se pune apă de conductă, care a stat cîtva timp ca să ia temperatura camerei, şi se numără bulele degajate pe minut în apropierea unui bec electric. Se înlocuieşte apa din eprubetă cu apă de conductă fiartă timp de 20 minute şi lăsată să se răcească pînă la temperatura camerei. Se constată că degajarea de bule încetează, deoarece prin fierbere s-a înlăturat CO_2 dizolvat în apă, sau că are loc degajarea unui număr foarte mic de bule, care se datoreşte faptului că în timpul răcirii s-a dizolvat puţin CO_2 din aer în apa utilizată.

Adăugînd în eprubetă o cantitate mică de $NaHCO_3$, se va constata după un timp scurt că planta începe să degaje un număr mare de bule, deoarece $NaHCO_3$ prin disociere pune în libertate CO_2 după reacţia:

$$2NaHCO_3 \rightleftharpoons CO_2 + Na_2CO_3 + H_2O$$

Experienţa demonstrează că CO_2 este absolut necesar în fotosinteză.

Experienţa nr. 146

INFLUENŢA TEMPERATURII ASUPRA FOTOSINTEZEI

Pentru punerea în evidenţă a influenţei temperaturii, se recurge tot la o eprubetă cu o ramură de *Elodea*, care se ţine tot timpul experienţei la aceeaşi distanţă faţă de sursa de lumină.

La început se pune în eprubeta cu planta apă de la conductă, a cărei temperatură să fie cuprinsă între 18 şi 20°C. După ce s-a obţinut un număr constant de bule, care se notează, se încălzeşte eprubeta într-o baie cu apă caldă pînă la temperatura de 30—35°C, după care se readuce la sursa de lumină şi se numără din nou bulele degajate pe minut. Se va constata că, prin ridicarea temperaturii, are loc o creştere a intensităţii fotosintezei.

Experienţa nr. 147

INFLUENŢA ANESTEZICILOR ASUPRA INTENSITĂŢII FOTOSINTEZEI

Ţinem eprubeta cu apă, în care am pus o ramură de *Elodea*, la o distanţă oarecare de un bec electric şi aşteptăm pînă cînd se obţine un număr constant de bule pe minut. Se adaugă apoi 5—7 picături de

cloroform sau eter. La început se constată o degajare puternică de bule, care după cîteva minute se micşorează, pentru ca în cele din urmă să înceteze complet.

Dăm în continuare rezultatele obţinute (tabelul 9).

Tabelul 9

Influenţa anesteziilor asupra intensităţii fotosintezei

Momentul experienţei	Numărul de bule degajate pe minut
Înainte de adăugarea eterului	41 42 42 42
După adăugarea eterului primul minut al II-lea minut al III-lea minut al IV-lea minut al V-lea minut al VI-lea minut al VII-lea minut al VIII-lea minut	80 120 60 22 4 4 4 0

4. STUDIUL PIGMENŢILOR CLOROFILIENI

Experienţa nr. 148

EXTRAGEREA PIGMENŢILOR DIN FRUNZE

Extragerea pigmenţilor se poate face din frunzele proaspete ale oricărei plante, iar iarna se pot folosi frunze pe care le-am uscat din timpul verii (de exemplu, frunze de urzică).

a) *Extragerea la rece.* Se iau 5 g de frunze proaspete sau 1 g de frunze uscate, se mărunţesc şi se pun într-un mojar cu o cantitate mică de alcool etilic. Se triturează bine frunzele, iar alcoolul care a extras o parte din clorofilă se colectează într-un vas, trecîndu-l printr-o pîlnie cu hîrtie uscată de filtru. Această operaţie se repetă cu noi cantităţi de alcool, pînă cînd acesta rămîne incolor. Trebuie să avem grijă ca alcoolul adăugat să nu fie în cantitate prea mare, pentru ca soluţia obţinută să nu fie prea diluată.

b) *Extragerea la cald.* Într-un balon Erlenmeyer luăm aceeaşi cantitate de frunze ca la punctul *a* şi se adaugă alcool etilic pînă cînd se acoperă complet frunzele. Se fierbe la o flacără mică, iar pentru a evita

cloroform sau eter. La început se constată o degajare puternică de bule, care după cîteva minute se micşorează, pentru ca în cele din urmă să înceteze complet.

Dăm în continuare rezultatele obţinute (tabelul 9).

Tabelul 9

Influenţa anesteziilor asupra intensităţii fotosintezei

Momentul experienţei	Numărul de bule degajate pe minut
Înainte de adăugarea eterului	41 42 42 42
După adăugarea eterului primul minut al II-lea minut al III-lea minut al IV-lea minut al V-lea minut al VI-lea minut al VII-lea minut al VIII-lea minut	 80 120 60 22 4 4 4 0

4. STUDIUL PIGMENŢILOR CLOROFILIENI

Experienţa nr. 148

EXTRAGEREA PIGMENŢILOR DIN FRUNZE

Extragerea pigmenţilor se poate face din frunzele proaspete ale oricărei plante, iar iarna se pot folosi frunze pe care le-am uscat din timpul verii (de exemplu, frunze de urzică).

a) *Extragerea la rece.* Se iau 5 g de frunze proaspete sau 1 g de frunze uscate, se mărunţesc şi se pun într-un mojar cu o cantitate mică de alcool etilic. Se triturează bine frunzele, iar alcoolul care a extras o parte din clorofilă se colectează într-un vas, trecîndu-l printr-o pîlnie cu hîrtie uscată de filtru. Această operaţie se repetă cu noi cantităţi de alcool, pînă cînd acesta rămîne incolor. Trebuie să avem grijă ca alcoolul adăugat să nu fie în cantitate prea mare, pentru ca soluţia obţinută să nu fie prea diluată.

b) *Extragerea la cald.* Într-un balon Erlenmeyer luăm aceeaşi cantitate de frunze ca la punctul *a* şi se adaugă alcool etilic pînă cînd se acoperă complet frunzele. Se fierbe la o flacără mică, iar pentru a evita

Scanned with OKEN Scanner

aprinderea vaporilor de alcool, se acoperă vasul cu o sticlă de ceas. Fierberea se continuă pînă cînd dispare culoarea verde a frunzelor. Se obţine o soluţie adevărată de clorofilă, care se filtrează prin hîrtie de filtru uscată. Ea poate fi folosită la punerea în evidenţă a proprietăţilor fizice şi chimice ale pigmenţilor din frunze şi la separarea acestora.

Experienţa nr. 149

PROPRIETĂŢILE FIZICE ŞI CHIMICE ALE PIGMENŢILOR CLOROFILIENI

a) *Fluorescenţa.* Fluorescenţa este proprietatea pe care o au unele soluţii ca în lumina directă să aibă o culoare, iar prin reflexie să aibă o altă culoare. La soluţia adevărată de clorofilă, fluorescenţa constă în aceea că prin transparenţă are o culoare verde, iar prin reflexie culoare roşie-brună. Fluorescenţa se datoreşte proprietăţii clorofilei de a transforma radiaţiile verzi cu lungime de undă mai mică în radiaţii roşii cu lungime de undă mai mare.

Pentru a observa acest fenomen se ia o eprubetă cu soluţie alcoolică de clorofilă şi se priveşte prin transparenţă, aşezînd eprubeta între observator şi sursa de lumină: soluţia va avea o culoare verde. Privind apoi eprubeta din aceeaşi parte cu sursa de lumină (prin reflexie), soluţia va avea culoarea roşie-brună.

Ca să observăm fluorescenţa, trebuie să avem grijă ca la extragerea pigmenţilor din frunză hîrtia de filtru, pîlnia şi eprubeta în care se face filtrarea să fie uscate, deoarece apa trece soluţia adevărată de clorofilă în soluţie coloidală şi în acest caz fluorescenţa dispare.

b) *Spectrul de absorbţie al pigmenţilor din frunze.* Se aşază o eprubetă cu soluţie alcoolică diluată de clorofilă la o distanţă de 0,5 cm de fanta unui spectroscop. Privind prin ocular, se observă că în spectru apar două benzi de absorbţie: una situată în radiaţiile roşii, iar alta în radiaţiile violete. Cînd soluţia este mai diluată, aceste benzi sînt mai înguste decît atunci cînd soluţia este concentrată, după cum se vede în figura 108.

Prezenţa benzilor negre se explică astfel: din razele de lumină care vin la spectroscop trecînd prin soluţia de clorofilă, aceasta absoarbe anumite radiaţii, din roşu şi din violet, şi în locul radiaţiilor absorbite apar benzi negre.

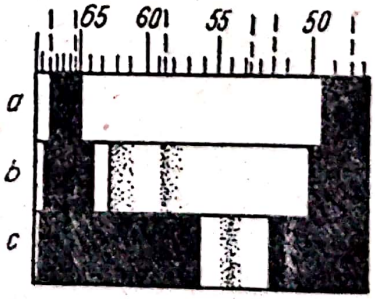


Fig. 108. Spectrele de absorbţie ale extractelor alcoolice de clorofilă de diferite concentraţii: *a* — concentraţie slabă, *b* — concentraţie mijlocie, *c* — concentraţie mare (după F.D. Skazkin şi colaboratorii).

c) *Fotooxidarea clorofilei.* Se iau două eprubete şi se pun cîte 2—3 ml de extract alcoolic de pigmenţi din frunze în fiecare. Una dintre eprubete se aşază la întuneric, iar cealaltă se ţine la lumină. După cîteva zile se va constata că extractul din eprubeta ţinută la lumină se brunifică, iar cel din eprubeta de la întuneric rămîne verde.

Scanned with OKEN Scanner

Brunificarea extractului ţinut la lumină se datoreşte oxidării clorofilei sub acţiunea luminii.

d) *Obţinerea feofitinei.* Feofitina se obţine prin tratarea soluţiei alcoolice de clorofilă cu acizi minerali sau organici diluaţi. Pentru aceasta se iau 5—6 ml de extract de pigmenţi din frunze, se adaugă 4 picături de HCl 20% (reactivul 4 e) şi se agită uşor. Culoarea verde a soluţiei se schimbă în brun prin formarea feofitinei. Adăugînd acestei soluţii de feofitină o cantitate mică de acetat de zinc sau de cupru şi încălzind uşor, soluţia se colorează din nou în verde.

Prin tratarea cu acizi, magneziul din molecula clorofilei este înlocuit cu doi atomi de hidrogen, rezultînd feofitina de culoare brună, după formula:

$$\underset{\text{clorofila } a}{C_{32}H_{30}ON_4Mg\begin{cases}COOCH_3\\COOC_{20}H_{39}\end{cases}} + 2HCl \rightarrow$$

$$\rightarrow \underset{\text{feofitina } a}{C_{32}H_{32}ON_4\begin{cases}COOCH_3\\COOC_{20}H_{39}\end{cases}} + MgCl_2$$

Prin adăugarea de săruri de zinc sau cupru la soluţia de feofitină, aceste metale înlocuiesc cei doi atomi de hidrogen şi reapare culoarea verde a soluţiei.

e) *Saponificarea clorofilei.* Tratînd cu un hidroxid soluţia alcoolică de pigmenţi din frunze, se produce saponificarea clorofilei în felul următor: clorofila *a* şi *b* se descompun în acool metilic, alcool fitilic (fitol) şi acid clorofilic *a* şi *b* (clorofilină *a* şi *b*), după reacţia:

$$\underset{\text{clorofila } a}{C_{32}H_{30}ON_4Mg\begin{cases}COOCH_3\\COOC_{20}H_{39}\end{cases}} (KOH) \rightarrow$$

$$\rightarrow \underset{\substack{\text{alcool}\\\text{metilic}}}{CH_3OH} + \underset{\text{fitol}}{C_{20}H_{29}OH} + \underset{\text{clorofilina } a}{C_{22}H_{30}ONMg\begin{cases}COOH\\COOH\end{cases}}$$

Mai departe atomii de hidrogen de la grupările acide ale clorofilinei *a* şi *b* sînt înlocuiţi cu atomii de metal ai bazei respective şi se formează sarea respectivă a clorofilinei *a* şi *b*.

Pentru saponificare se procedează astfel: peste 3—4 ml de extract alcoolic de pigmenţi se adaugă 1 ml KOH sau NaOH 20%; clorofila se saponifică prin formarea sărurilor solubile de sodiu sau potasiu a clorofilinei *a* şi *b* şi prin aceasta culoarea verde a soluţiei nu se schimbă. Dacă în loc de KOH sau NaOH se foloseşte $Ba(OH)_2$ 5%, atunci se obţine sarea insolubilă de bariu a clorofilinei *a* şi *b*.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 150

SEPARAREA PIGMENŢILOR CLOROFILIENI

Metodele de separare a pigmenţilor clorofilieni se împart în două grupe: metode bazate pe separarea cu ajutorul solvenţilor şi metode cromatografice.

Metodele de separare cu ajutorul solvenţilor se bazează pe folosirea unor solvenţi specifici pentru fiecare pigment.

Metodele cromatografice se bazează pe capacitatea celor patru pigmenţi clorofilieni de a fi adsorbiţi în mod diferit.

a) *Metoda Sorby-Kraus.* Se iau într-o eprubetă 10 ml de extract alcoolic de clorofilă brută, peste care se adaugă 15 ml de benzină şi 1—2 picături de apă. Se agită bine eprubeta şi se lasă în repaus, pentru ca să se separe cei doi solvenţi. (Alcoolul şi benzina nu se separă în cazul cînd sînt lipsiţi de apă, din această cauză se adaugă 1—2 picături de apă. Nu trebuie însă să se adauge mai multă apă, deoarece clorofila *a* şi *b* trec în soluţie coloidală).

La partea superioară a lichidului se separă un strat de benzină, de culoare verde-albăstruie, ce conţine clorofila *a*, clorofila *b* şi carotina, iar la partea inferioară se găseşte soluţia alcoolică de culoare galbenă ce conţine xantofila. Cele două soluţii se pot separa cu ajutorul unei pipete sau cu o pîlnie de separaţie.

b) *Metoda capilarităţii.* Această metodă se bazează pe gradul diferit de adsorbţie a celor patru pigmenţi din frunze de către celuloza din hîrtia de filtru.

Pentru adsorbţia pigmenţilor se taie o fîşie din hîrtia de filtru lată de 1 cm şi lungă de 20 cm, pe care o suspendăm în interiorul unui vas de sticlă cu ajutorul unei baghete, ca în figura 109. În vas se introduce un strat de soluţie alcoolică de clorofilă, a cărei înălţime să fie de 1,5—2 cm. Capătul inferior al hîrtiei de filtru trebuie să intre în soluţia de clorofilă fără să ajungă la fundul vasului.

Datorită capilarităţii, soluţia se ridică prin porii hîrtiei de filtru. Pigmenţii din soluţie, fiind adsorbiţi diferit, se vor separa în lungul hîrtiei în două zone: o zonă galbenă la partea superioară, care conţine carotina şi xantofila, şi o zonă verde la partea inferioară, care conţine clorofila *a* şi *b*.

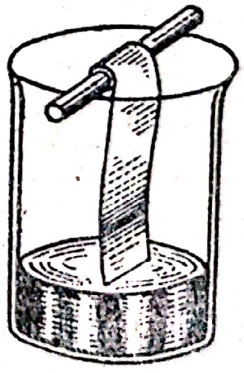


Fig. 109. Separarea pigmenţilor clorofilieni prin metoda capilarităţii (după E. Brugovitzky).

c) *Metoda cromatografiei pe hîrtie.* Pentru separarea completă a celor patru pigmenţi se procedează în felul următor: pe o fîşie de hîrtie de filtru lată de 3 cm şi lungă de 20 cm se trasează la unul din capete, la o distanţă de 2 cm, o dungă transversală de soluţie de pigmenţi cu ajutorul unei pipete cu vîrf foarte ascuţit. După ce se usucă, se trasează a doua dungă peste prima; se repetă această operaţie de 10—15 ori, pentru a obţine o dungă intens colorată.

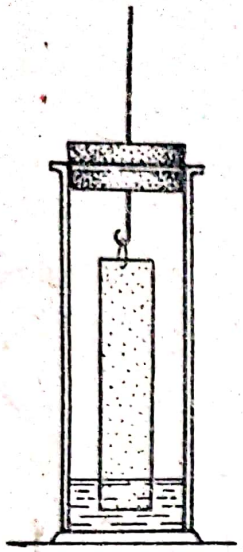


Fig. 110. Instalaţia pentru separarea pigmenţilor clorofilieni prin metoda cromatografiei pe hîrtie (după E. Brugovitzky).

Se introduce apoi hîrtia de filtru într-un cilindru de sticlă, care se acoperă la partea superioară cu un dop de cauciuc, străbătut de o baghetă îndoită în formă de cîrlig la partea inferioară. Hîrtia de filtru se fixează la acest cîrlig cu capătul opus dungii colorate. Pe fundul cilindrului se găseşte un amestec compus din benzină 30 părţi, acetonă 1 parte şi alcool metilic 0,3 părţi. Hîrtia se ţine suspendată deasupra amestecului timp de 30 minute, pentru ca în cilindru să se formeze o atmosferă saturată în vaporii celor 3 substanţe din amestec. După trecerea celor 30 de minute, se apasă bagheta pentru a introduce capătul inferior al hîrtiei de filtru, pe o distanţă de 0,5 cm, în solvent (fig. 110). Acesta se ridică de-a lungul hîrtiei şi antrenează cu sine pigmenţii, care datorită gradului diferit de adsorbţie se repartizează astfel: la partea superioară — carotina, marcată printr-o dungă portocalie; urmează apoi xantofila, de culoare galbenă, iar pigmenţii verzi, fiind adsorbiţi mai puternic, se găsesc la partea inferioară, şi anume: clorofila *a*, de culoare verde-albăstruie, şi sub aceasta clorofila *b*, de culoare verde-gălbuie.

d) *Metoda Ţvet.* Această metodă se bazează pe capacitatea diferită de adsorbţie a celor patru pigmenţi din frunze, de către anumite substanţe.

Extractul de pigmenţi se pregăteşte astfel: se iau 5—10 g de frunze proaspete, se mărunţesc, se adaugă 45 ml de benzină, 5 ml de benzol şi 15 ml de alcool metilic şi se lasă în repaus 24 de ore, după care lichidul se filtrează. Turnăm extractul de clorofilă într-o pîlnie de separaţie şi, prin adăugare de apă, alcoolul metilic se separă la partea inferioară a pîlniei şi după aceea îl îndepărtăm. Operaţia de îndepărtare a alcoolului metilic prin adăugare de apă se repetă de 4 ori. (Conţinutul pîlniei nu trebuie agitat, deoarece se formează o emulsie foarte fină, care după aceea se separă greu.) Apa care a mai rămas în extract se înlătură adăugînd cristale Na_2SO_4 anhidru.

Pigmenţii conţinuţi în extractul preparat astfel se separă cu ajutorul unei coloane Ţvet, ce se pregăteşte în felul următor: se ia un tub de sticlă lung de 18 cm şi cu diametrul de 1 cm, care este subţiat la partea inferioară. La partea inferioară a tubului se pune o placă de porţelan, perforată, de dimensiunea tubului, apoi un strat de vată de 1 cm, peste care se presează trioxid de aluminiu (Al_2O_3) cu ajutorul unei baghete de sticlă turtită la capăt, pînă se formează un strat de 2 cm înălţime.

Trioxidul de aluminiu trebuie încălzit în prealabil pe o tavă smălţuită, pentru a pierde apa pe care eventual o conţine. Deasupra acestui strat se aşază o coloană bine presată de 4 cm înălţime de $CaCO_3$ uscat la 150°C şi apoi o altă coloană de 6 cm înălţime din zahăr pudră. Co-

loana de adsorbţie astfel pregătită se introduce cu partea subţiată a tubului de sticlă printr-un dop de cauciuc care se află deasupra unui vas Bunsen, pus în legătură cu o trompă de vid. Se pune în funcţiune trompa de vid, care trebuie să aibă pe cît posibil un debit constant, şi se trece prin coloană benzină curată, cu punctul de fierbere între 70 şi 80°C. După ce benzina a ajuns la partea inferioară a coloanei, iar deasupra acesteia se mai găseşte o cantitate mică de benzină, se toarnă extractul de pigmenţi picătură cu picătură, avînd grijă ca tot timpul să se găsească deasupra coloanei un strat subţire de extract.

Pigmenţii din extract se vor separa în ordinea următoare: deasupra, în coloana de zahăr, va fi adsorbită clorofila *b* de culoare verde-gălbuie. Tot în această coloană, sub clorofila *b* va fi adsorbită şi clorofila *a*, de culoare verde-albăstruie.

În coloana de $CaCO_3$ se va adsorbi xantofila, de culoare galbenă, iar mai jos, în coloana de Al_2O_3, se va adsorbi carotina, care are culoarea roz (fig. 111).

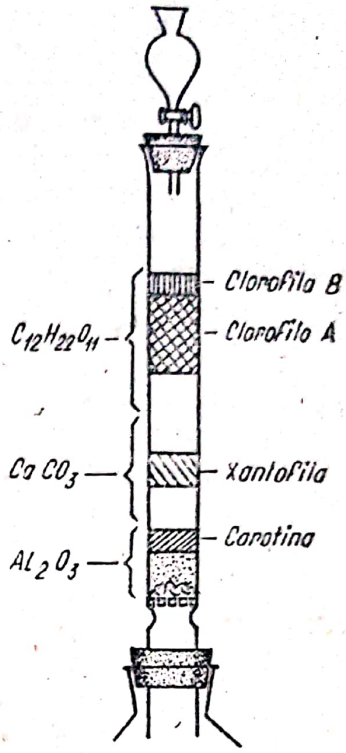


Fig. 111. Separarea pigmenţilor clorofilieni prin metoda cromatografiei pe coloană (după E. Brugovitzky.)

În momentul cînd a trecut aproape tot extractul prin coloană, dar a mai rămas un strat fin la partea superioară, se face spălarea coloanei, operaţie care poartă numele de developarea cromatogramei.

Developarea se face trecînd prin coloană un amestec format din benzină şi benzol, în proporţia de 4 : 1. După ce inelele de pigmenţi formate s-au separat cît mai distinct, se face spălarea coloanei cu eter de petrol şi apoi se face uscarea coloanei, absorbind un curent de CO_2 de la aparatul Kipp sau de la altă sursă.

Coloana astfel pregătită se scoate din tubul de sticlă, împingînd placa de porţelan de la capătul inferior cu o baghetă. Porţiunile de coloană de aceeaşi culoare se separă prin tăiere, iar pigmenţii respectivi se extrag cu un amestec format din 20 ml de eter şi 1 ml de alcool metilic. Extractele obţinute se filtrează şi pentru determinările cantitative se aduce fiecare extract la un volum anumit şi se determină colorimetric (v. experienţa nr. 152).

Experienţa nr. 151

DEMONSTRAREA NECESITĂŢII LUMINII ÎN FORMAREA CLOROFILEI

Se ia un cristalizor de sticlă, se acoperă pereţii cu hîrtie neagră pe dinăuntru, iar pe fundul cristalizorului se pune un strat de rumeguş sau nisip umezit. Deasupra se pun seminţe de in, ovăz sau

orz îmbibate în prealabil; se acoperă vasul cu o pînză neagră şi se lasă la întuneric la temperatura de 20° C. După 8—10 zile, cînd au apărut primele frunze, se ia vasul şi se acoperă cu un capac de carton prevăzut cu o fereastră mică şi se ţine la lumina zilei sau la un bec electric.

După 2—3 ore, se observă că frunzele plantelor care au primit lumină prin fereastra capacului vor avea culoarea verde, datorită clorofilei ce s-a format în prezenţa luminii, pe cînd celelalte (la care nu ajunge lumina) vor avea culoarea galbenă.

Experienţa nr. 152

DETERMINAREA CANTITĂŢII DE CLOROFILĂ DIN FRUNZE (DUPĂ J. D. GUTHRIE)

Metoda se bazează pe compararea culorii extractului de clorofilă obţinut din frunzele plantelor de experienţă cu cea a unei soluţii standard.

Pentru soluţia standard, J. D. Guthrie recomandă folosirea unor soluţii de săruri minerale, care în amestec dau o soluţie ce corespunde culorii pigmenţilor verzi din frunze. În acest scop se folosesc trei soluţii: $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 1%, $K_2Cr_2O_7$ 2% şi NH_4OH 7% (reactivul 37 *c*), care se amestecă în următoarea proporţie: se pun 28,5 ml din soluţia de $CuSO_4$ într-un balon cotat de 100 ml, peste care se adaugă 30 ml din soluţia de $K_2Cr_2O_7$, 10 ml din soluţia de amoniac şi se adaugă apă pînă la semn. Acest amestec corespunde după culoare unei soluţii de 85 mg de clorofilă saponificată la 1 000 ml de solvent.

Pentru obţinerea pigmenţilor verzi, din frunzele a căror cantitate de clorofilă vrem s-o aflăm, se procedează astfel: se cîntăreşte într-o fiolă o cantitate determinată precis de 2—3 g de frunze proaspete (lotul *a*). Paralel se ia o altă cantitate de frunze (lotul *b*), cărora după ce li se determină exact greutatea proaspătă, li se determină şi greutatea uscată, prin ţinerea lor în termostat la 100° C, pînă ce ajung la greutate constantă.

Frunzele luate pentru determinarea cantităţii de clorofilă (lotul *a*) se mărunţesc în mojar cu o cantitate mică de alcool etilic 96% (2—3 ml). Soluţia ce se obţine se scurge într-un balon de sticlă prin hîrtie de filtru. Se continuă apoi mărunţirea frunzelor cu o nouă cantitate de alcool. Această operaţie se repetă, de mai multe ori, pînă cînd frunzele rămîn fără culoare.

Soluţia de clorofilă se trece într-o pîlnie de separaţie, se spală hîrtia de filtru şi balonul de sticlă cu o cantitate mică de alcool, care se toarnă tot în pîlnia de separaţie. La extractul alcoolic astfel obţinut, se adaugă 30 ml de eter şi 50 ml de apă. Clorofila trece în stratul superior de eter, iar stratul inferior se îndepărtează. Extractul de clorofilă rămas în pîlnie se spală de patru ori, adăugînd de fiecare dată cîte 50 ml de apă.

Scanned with OKEN Scanner

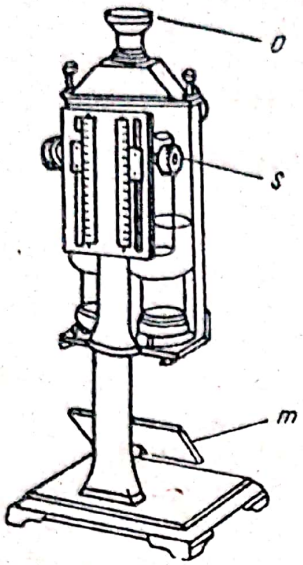


Fig. 112. Colorimetrul Dubosq :

o — ocular ; *s* — şuruburi ; *m* — oglindă, (după N. N. Ivanov).

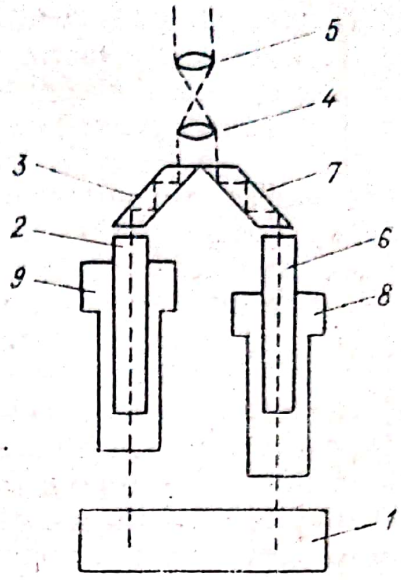


Fig. 113. Schema optică a colorimetrului Dubosq :

1 — oglindă ; *2* şi *6* — vergele de sticlă ; *8* şi *9* — cuve ; *3* şi *7* — prisme ; *4* — lentilă ; *5* — ocular (după I. Bănăţeanu şi colaboratorii).

La extractul de clorofilă se adaugă apoi 5 ml dintr-o soluţie de KOH 30% în alcool metilic, pentru saponificarea clorofilei. Se vor separa două straturi, din care cel inferior, care conţine sarea de potasiu a clorofilinei (forma saponificată a clorofilei), se toarnă într-un balon cotat şi se completează pînă la 100 ml cu alcool etilic. Din această soluţie se iau probe pentru determinarea cantităţii de clorofilă, comparînd culoarea lor cu a soluţiei standard la colorimetrul Dubosq.

Determinarea cantităţii de clorofilă cu ajutorul colorimetrului Dubosq. Colorimetrul Dubosq, reprezentat în figura 112, se compune dintr-un ocular *(o)*, două prisme, două vergele de sticlă care se pot ridica şi coborî de-a lungul unei scări gradate în cîte o cuvă de sticlă cu ajutorul unor şuruburi *(s)*. La partea inferioară a aparatului se găseşte oglinda *(m)*. Schema optică a colorimetrului este reprezentată în figura 113. De la oglinda *1* pleacă o rază de lumină ce trece prin stratul de soluţie de cercetat, care se află în cuva *9* din partea stîngă a aparatului, apoi prin vergeaua *2*, prisma *3*, lentila *4* şi pătrunde în ocularul *5*, luminînd jumătatea din dreapta ocularului. O altă rază de lumină trece prin stratul de soluţie etalon din cuva *8* din partea dreaptă, apoi prin vergeaua *6*, prisma *7*, lentila *4* şi pătrunde în ocular, luminînd jumătatea stîngă a cîmpului optic.

Înainte de a turna soluţiile în cuve, se potriveşte poziţia oglinzii în aşa fel ca ambele jumătăţi ale cîmpului optic să fie iluminate egal. Se face apoi verificarea aparatului, turnînd soluţie standard în ambele cuve, care se umplu pînă la semn, astfel ca la coborîrea vergelelor soluţia să nu se verse din ele. Se coboară vergelele de sticlă în soluţii

și se fixează cu ajutorul șuruburilor la aceeași înălțime a scării gradate. Trebuie să avem grijă ca pe suprafața vergelei de sticlă să nu rămînă bule de aer, care se îndepărtează înclinînd cu atenție aparatul. Privind prin ocular, ambele cîmpuri optice trebuie să fie la fel de intens luminate.

După verificarea aparatului, se spală cu puțină soluție de clorofilă cuva din stînga, și apoi se umple cu această soluție pînă la semn. După aceea, se fixează cu ajutorul șurubului din dreapta nivelul vergelei de sticlă, care intră în soluția standard la o diviziune oarecare a scării (20 sau 30). Cu ajutorul șurubului din stînga micșorăm sau mărim drumul razei de lumină prin soluția de cercetat, coborînd sau urcînd vergeaua de sticlă pînă cînd cele două cîmpuri optice au aceeași culoare, și notăm diviziunea citită pe scară corespunzătoare soluției de cercetat.

Determinarea se repetă de cinci ori și se ia ca rezultat media citirilor. Dacă clorofila din soluția de cercetat este în cantitate prea mare, iar cîmpul corespunzător (jumătatea din dreapta, deoarece cîmpurile optice sînt inversate față de cuve) este prea intens colorat, atunci se diluează extractul de clorofilă cu alcool etilic de două sau de trei ori, avînd grijă să ținem seama de acest fapt în calcularea rezultatelor.

Calcularea cantității de clorofilă se face pornind de la relația:

$$\frac{C_1}{C_2} = \frac{h_2}{h_1},$$

în care:

C_1 este concentrația soluției de cercetat;
C_2 — concentrația soluției standard (85 mg la litru sau 8,5 mg %);
h_1 — înălțimea coloanei soluției de cercetat;
h_2 — înălțimea coloanei soluției standard.

Această relație ne arată că înălțimile straturilor de soluții cu aceeași colorație sînt invers proporționale cu concentrațiile lor.

Din această relație putem afla concentrația C_1 a soluției de clorofilă, care este egală cu:

$$C_1 = C_2 \frac{h_2}{h_1}$$

Deoarece rezultatul se raportează la greutatea uscată de frunze, aceasta se calculează după formula:

$$N = \frac{M \cdot B}{A},$$

unde:

N este greutatea uscată a frunzelor proaspete din care s-a extras clorofila;
M — greutatea uscată a frunzelor ținute în termostat, în g (lotul b);
A — greutatea proaspătă a frunzelor puse la uscat, în g (lotul b);
B — greutatea proaspătă a frunzelor din care s-a extras clorofila, în g.

Scanned with OKEN Scanner

Cantitatea de clorofilă *(P)* corespunzătoare la 1 g de substanță uscată va fi egală cu:

$$P = \frac{C_1}{N}$$

Dacă la colorimetrare s-a diluat extractul de clorofilă de 2 sau 3 ori, rezultatul obținut se înmulțește cu 2, respectiv 3.

Experiența nr. 153

SEPARAREA CAROTINEI ȘI XANTOFILEI (DUPĂ K. A. TIMIREAZEV)

Extractul alcoolic din frunze verzi se precipită prin tratare cu $Ba(OH)_2$ 1% și se lasă astfel 12—24 ore. Precipitatul conține carotină, xantofilă și clorofilă *a* și *b* saponificate.

Precipitatul se filtrează prin hîrtie de filtru, iar reziduul de pe hîrtia de filtru se spală de cîteva ori cu alcool etilic 95% (reactivul 10 *a*). Alcoolul antrenează pigmenții galbeni care trec în filtrat, iar pe filtru rămîn pigmenții verzi sub formă de săruri de bariu ale acidului clorofilinic.

În filtratul care conține pigmenții galbeni se adaugă eter de petrol. Se separă două straturi: unul de eter, la partea superioară, în care trece carotina, iar în stratul inferior, de alcool, trece xantofila.

Experiența nr. 154

OBȚINEREA CRISTALELOR DE CAROTINĂ

Se ține o ramură cu frunze proaspete de *Elodea* în soluție alcoolică de KOH (reactivul 40) 1—2 zile. Pentru ca experiența să reușească, se acoperă vasul cu un dop de cauciuc, ca să împiedicăm formarea K_2CO_3 cu bioxidul de carbon din aer.

Sub acțiunea soluției alcoolice de KOH, pigmenții verzi trec în soluție sub formă de sare de potasiu a clorofilinei, iar carotina cristalizează în celule. După trecerea intervalului de timp arătat se spală bine ramura cu apă, se ia o frunză, se pune pe o lamă de sticlă într-o picătură de glicerină și se observă la microscop. Cristalele de carotină se prezintă sub formă de lame rombice în celule, ca în figura 114.

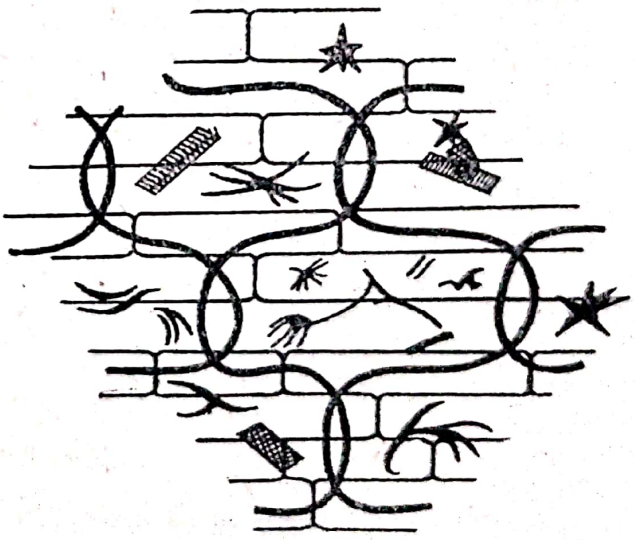


Fig. 114. Cristale de carotină din frunzele de *Elodea* (după Molisch, din E. Brugovitzky).

Experienţa nr. 155

DETERMINAREA CANTITĂŢII DE CAROTINĂ DIN PLANTE

Pentru dozarea carotinei din plante, este necesară obţinerea acestui pigment în stare pură. Extragerea carotinei după metoda Willstätter constă în următoarele operaţii: extragerea pigmenţilor din plante cu acetonă şi eter etilic, după care se separă din extract acetona şi urmele de pigmenţi solubili în apă, iar clorofila se saponifică cu o soluţie de hidrat.

Modul de lucru este următorul: se iau într-un mojar 10 g de material vegetal proaspăt, se adaugă cîteva picături de NaOH 1% pentru neutralizarea acizilor organici şi se mărunţeşte cu 25 g de nisip cuarţos. Se adaugă apoi 50—100 ml de acetonă şi se continuă mărunţirea, pînă cînd se obţine o masă uniformă. Masa obţinută se filtrează printr-o pîlnie Büchner, pe fundul căreia se pune un strat de hîrtie de filtru. Gîtul pîlniei trece printr-un dop de cauciuc, care se fixează la un balon Bunsen, ce este pus în legătură cu trompa de vid. Materialul vegetal se spală cu acetonă pură (aproximativ 150 ml), pînă cînd filtratul rămîne incolor. După aceea, reziduul se spală cu eter etilic (pînă la 150 ml).

Se trece apoi filtratul cantitativ într-o pîlnie de separaţie de 1 l şi se îndepărtează acetona, procedînd în felul următor: se toarnă cu grijă puţină apă, pînă cînd se separă un strat incolor sau slab colorat în galben la partea inferioară, care apoi se îndepărtează. Se repetă spălarea de cîteva ori, evitînd agitarea lichidului. Dacă se formează o emulsie, aceasta se îndepărtează prin spălare cu o soluţie de NaCl 5%. Antocianurile şi flavonele rămase se îndepărtează prin spălare cu o soluţie de NaOH 1%.

Soluţia de pigmenţi din eter se trece într-un balon de 250 ml şi se adaugă 10—25 ml dintr-o soluţie saturată de KOH în alcool metilic (reactivul 41) pentru saponificarea clorofilei. Se lasă în repaus 24 de ore. Dacă este nevoie ca separarea să se facă imediat, saponificarea se poate face prin agitare puternică timp de 15 minute.

Soluţia din balon care a stat în repaus şi care conţine sărurile clorofilinice, carotina şi xantofila, se trece din nou într-o pîlnie de separaţie. Se clăteşte balonul cu apă distilată (15—20 ml) şi de două ori cu eter etilic (în total 25 ml), ce se toarnă tot în pîlnia de separaţie.

În pîlnie se mai adaugă încă 100 ml de eter, se agită puternic şi se lasă în repaus 15—30 minute, după care stratul inferior de culoare verde care s-a format şi care conţine sărurile clorofilinice se îndepărtează. Stratul de eter care a rămas şi care conţine carotina şi xantofila se spală de două ori cu apă, pentru a îndepărta urmele de pigmenţi verzi.

Din soluţia ce conţine sărurile clorofilinice, care a fost îndepărtată, se recuperează urmele de carotină, care eventual ar fi fost antrenate, în felul următor: se trece această soluţie într-o altă pîlnie de separare

și se adaugă 75 ml de apă și 100 ml de eter, se înlătură apoi stratul inferior format, iar stratul de eter rămas se toarnă în prima pîlnie peste eterul ce conține carotina și xantofila și se spală o singură dată cu o soluție diluată de KOH 1% (10—25 ml) și de două ori cu apă distilată, pentru a îndepărta urmele de hidrat și de săruri clorofilinice. După aceea, soluția de eter se trece într-un balon și se evaporă la temperatura de 50°C (sau mai puțin), pînă se ajunge la un volum de cîțiva mililitri. Se pune apoi balonul în legătură cu o trompă de vid, pentru a îndepărta urmele de eter. Peste pigmenții galbeni rămași în balon se pun 110 ml de eter de petrol proaspăt și 50 ml de alcool metilic 85% (reactivul 11 *b*) și se trece acest amestec într-o pîlnie de separație de 250 ml. Se agită și se lasă apoi în repaus, pînă se separă două straturi: un strat superior de eter de petrol, care conține carotina, și un strat inferior de alcool metilic, care conține xantofila. Acesta din urmă se îndepărtează. Eterul de petrol rămas, ce conține carotina, se spală, pentru a îndepărta urmele de xantofilă, de două ori cu alcool metilic 85%, o dată cu alcool metilic 90% (reactivul 11 *b*), de 2—3 ori cu alcool metilic 92% (reactivul 11 *a*), folosind la fiecare spălare cîte 25 ml. După fiecare adăugare de alcool metilic se agită și se lasă în repaus 5 minute, pînă la completa separare a straturilor.

Carotina din eterul de petrol se spală de 2—3 ori cu apă distilată, care se îndepărtează după ce am așteptat să se separe bine straturile.

Urmele de apă rămase se îndepărtează filtrînd extractul în eter de petrol prin Na_2SO_4 anhidru. Se trece apoi soluția de eter de petrol într-un balon cotat de 100 ml și se completează pînă la semn cu eter de petrol.

Carotina astfel obținută se dozează colorimetric (v. experiența nr. 152). Dozarea colorimetrică a carotinei se face la fel cu a clorofilei, folosind ca soluție standard o soluție de 0,2% $K_2Cr_2O_7$, care corespunde după culoare unei soluții de 0,0268 g de carotină la litru.

BIBLIOGRAFIA

1. Anikiev, V. V., Miller, M. S., Obuhova, G. A., Skazkin, F. D., *Letnie prakticeskie zaniatiia po fiziologhii rastenii*, Moskva, Gosudarstvennoe ucebno-pedagoghiceskoe izdateltstvo Ministerstva procescenia R.S.F.S.R., 1960.
2. Bănăţeanu, I., Căluşaru, A., Slabu, D., *Metode fizico-chimice de analiză*, Bucureşti, Editura tehnică, 1961.
3. Brauner, L., *Pflanzenphysiologische Praktikum*, 1 Teil, Jena, Verlag von Gustav Fischer, 1929.
4. Brugovitzky, E., *Növényélettani vizsgálatok*, Bukarest, Mezögazdasági és erdészeti állami könyvkiadó, 1957.
5. Cialahian, M. H., *Tvetnie reakţii na belok v listiah rastenii*, Moskva, Dokladi Akad. Nauk SSSR, t. 95, nr. 2, 1954.
6. Chirilei, H., Puşcaş, M., Bărbat, I., *Manual de fiziologia plantelor, pentru institutele agronomice şi agrosilvice*, Litografia şi tipografia învăţămîntului, 1957.

7. Crasovschi, N. P., *Chimie analitică. Analiza cantitativă*, Bucureşti, Editura tehnică, 1952.
8. Ermakov, A. I., Arasimovici, V. V., Smirnova-Ikonnikova, M. I., Murri, I .K., *Metodi biohimiceskogo issledovania rastenii*, Moskva—Leningrad, Selhozghiz, 1952.
9. Guthrie, J. D., *American Journal of Botany*; 15, 86; 1928.
10. Ivanov, N. I., *Metodi fiziologhii i biochimii rastenii*, Moskva—Leningrad, Selhozghiz, 1946.
11. Maucha, R., *Hydrochemische Methoden in der Limnologie*, Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, 1932.
12. Moisescu, N., *Fiziologia vegetală experimentală*, Bucureşti, 1907.
13. Niciporovici, A. A., *Svetovoe i uglerodnoe pitanie rastenii — fotosintez.* Moskva, Iz-vo Akademii nauk SSSR, 1955.
14. Pop, E., Sălăgeanu, N., Péterfi, Şt., Chirilei, H., *Manual de fiziologia plantelor*, vol. I, Litografia şi tipografia învăţământului, 1957.
15. Rabinovici, E., *Fotosintez*, Moskva, Iz-vo inostrannoi literaturî, 1953.
16. Rubin, B. A., *Fiziologhia rastenii*, Moskva, Gosudarstvennoe iz-vo „Sovetskaia nauka", 1954.
17. Ruhland, W., *Handbuch der Pflanzenphysiologie. Die CO_2 Assimilation*, Bd. V, Teil 1, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer—Verlag, 1960.
18. Sălăgeanu, N., *Contribuţii la metoda curentului de aer, pentru determinarea fotosintezei şi a respiraţiei*, în „Studii şi cercetări de biologie" — Seria biologie vegetală, t. X, 2, 1958.
19. Seledjanu, N., *Opredelenie manometriceskim metodom v polevîh usloviah intensivnosti fotosinteza i dihania listiev nazemnîh rastenii*, Revue de biologie, t. VII, nr. 2, 1962.
20. Seledjanu, N., Galan-Fabian D., *Issledovaniia po pitaniiu omeli obiknovennoi*, Fiziologhia rastenii, T. 8, v. 5, 1961.
21. Skaskin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., Krasnoselskaia, T. A., Miller, M. S., Anikiev, V. V., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, Gosudarstvennoe iz-vo „Sovetskaia nauka", 1953.
22. Zalenskii, O. V., Semihatova, O. A., Voznesenskii, V. L., *Metodi primenenia radioactivnogo ugleroda dlia izuceniia fotosinteza*, Moskva, Iz-vo Akad. Nauk S.S.S.R., 1955.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL VI

STUDIUL SUBSTANȚELOR ORGANICE ELABORATE DE PLANTE, TRANSFORMĂRILE ȘI CONDUCEREA LOR

de lector dr. EDIT BRUGOVITZKY

Substanțele organice elaborate de plante (asimilatele), după geneza și însemnătatea lor în organism, pot fi împărțite în 3 grupe biologice:

1) Substanțele vegetale *primare*, care sînt produse directe ale asimilației (glucide, poliglucide, proteine, lipide). Ele participă, în primul rînd, la structura materiei vii și a membranelor celulare și alcătuiesc materialul de bază al metabolismului vegetal, atît pe linia de sinteze cît și pe linia de dezagregări. Ele reprezintă condițiile structurale și genetice pentru dinamica vitală.

2) Substanțele vegetale *secundare*, care nu sînt produse directe ale asimilației, ci produse intermediare sau finale pe parcursul proceselor catabolice, fără nici o importanță structurală, fără roluri fiziologice fundamentale sau chiar fără nici un rol fiziologic experimental dovedit. Așa sînt acizii organici, vitamina C, uleiurile eterice, rășinile, gumele vegetale, glucozidele, alcaloizii, anumiți pigmenți solubili în apă etc. Multe din aceste substanțe au mare importanță ecologică, tehnică sau medicală.

3) Substanțe *active* sau *ergone* (*ergon* = lucru), care reglează și coordonează toate fenomenele fiziologice. În mod obișnuit, ergonele se împart în *enzime* (v. și capitolele VII—VIII), *vitamine* și *hormoni vegetali* (v. capitolul VIII). La acestea, unii autori mai adaugă anumiți compuși cu profunde acțiuni citofiziologice sau citopatologice, cum sînt pigmenții asimilatori (v. capitolul V), virusurile, toxinele, antibioticele, fitoncidele, marasminele și colinele.

O separare categorică din punct de vedere științific între aceste grupe nu se poate face. Astfel, lipidele și acizii organici ocupă un loc intermediar între primele două grupe, iar ergonele, într-o măsură oarecare, sînt și ele substanțe de structură, multe din ele fiind organic legate de proteinele structurale.

Asimilatele, care nu sînt consumate în procesele metabolice, se acumulează sub formă de substanțe de rezervă (amidon, inulină, hemiceluloză, aleuronă, grăsimi etc.).

Substanțele organice elaborate în frunze sau depozitate în organele de rezervă trebuie să ajungă la locurile de consum. Prima condiție a circulației lor este să se transforme în compuși solubili, ceea ce se realizează prin intermediul enzimelor

Transportul asimilatelor se face masiv prin vasele liberiene.

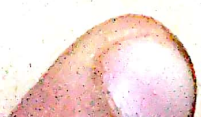
A. PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A SUBSTANȚELOR ORGANICE DIN PLANTE

1. GLUCIDE (HIDRAȚI DE CARBON)

Experiența nr. 156

EXTRAGEREA ȘI REACȚIILE DE IDENTIFICARE A MONOZAHARIDELOR

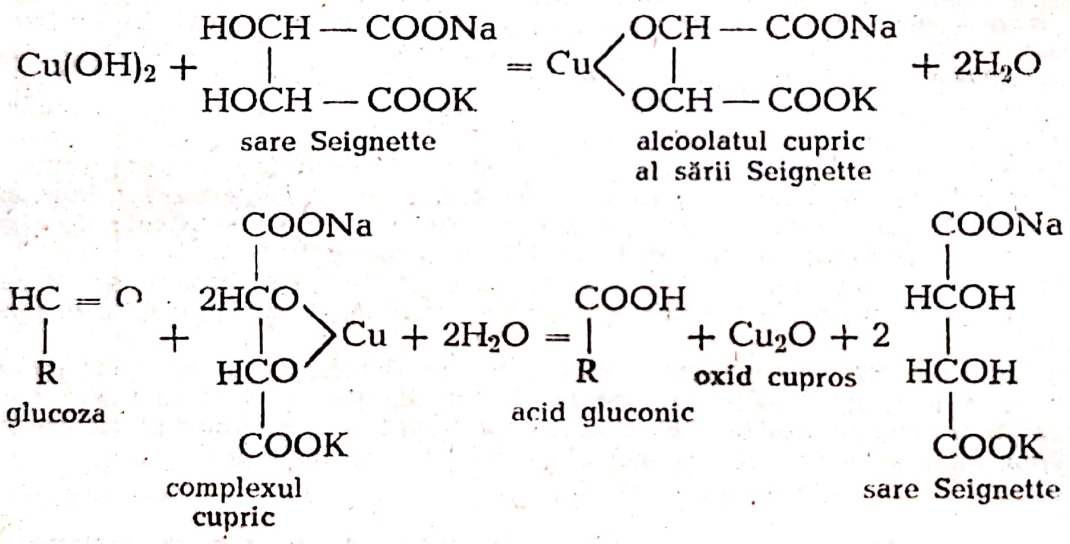
Din punct de vedere practic, cele mai importante monozaharide sînt pentozele și hexozele. Hexozele cele mai răspîndite din regnul vegetal sînt *glucoza* (dextroza, zahărul din struguri) și *fructoza* (levuloza, zahărul din fructe). Acestea sînt glucide reducătoare, deoarece conțin o grupare carbonilică liberă în molecula lor.



Modul de extragere. Glucoza şi fructoza pot fi puse în evidenţă în diferite fructe (struguri, mere, pere etc.), în ceapă, morcovi, seminţe germinate de grîu sau de orz (de 5—6 zile), chiar şi în ramurile unor arbori cu rezervă amilacee (stejar, fag, paltin, alun).

Materialul de examinat, răzuit sau mărunţit, se fierbe cîteva minute cu apă (se folosesc circa 100 ml de apă la 20 g de material vegetal). Extractul se filtrează sau se decantează şi se foloseşte la executarea reacţiilor prezentate mai jos. Se recomandă ca paralel cu aceste reacţii să se facă şi experienţe comparative cu soluţii de glucoză şi fructoză pură de 1—2%.

1) *Reacţiile comune aldozelor şi cetozelor.* a) *Reacţia Fehling.* La cîţiva mililitri de extract vegetal se adaugă într-o eprubetă 2—3 ml de amestec făcut din reactivul Fehling I ($CuSO_4$) şi Fehling II ($NaOH$ + sare Seignette). Soluţiile Fehling I şi Fehling II se amestecă numai în momentul întrebuinţării, în volume egale (reactivul 63). Amestecul astfel obţinut se agită şi se încălzeşte la fierbere. Sub acţiunea grupărilor reducătoare carbonilice (aldehidice, respectiv cetonice), cuprul bivalent din complexul albastru se reduce la cupru monovalent, precipitîndu-se sub formă de oxid cuproş roşu (Cu_2O): $CuSO_4 + 2NaOH = Cu(OH)_2 + Na_2SO_4$.



Reacţia este caracteristică pentru toate glucidele reducătoare, deci şi pentru unele dizaharide (de exemplu, pentru maltoză şi lactoză).

Reacţia Fehling poate fi folosită şi pentru identificarea histochimică a glucidelor reducătoare. Dintr-un bulb de ceapă se ia o secţiune care se aşază pe o lamă de microscopie şi se tratează cu o picătură din amestecul Fehling. Lama se încălzeşte uşor deasupra unei flăcări. Granulele mici de Cu_2O se pot distinge uşor la microscop, cîteodată chiar cu ochiul liber.

b) *Reacţia Barfoed.* La cîţiva mililitri din extractul vegetal se adaugă un volum egal din reactivul Barfoed (reactivul 52) şi se fierbe. Se formează precipitatul roşu de *oxid cupros* (Cu_2O). Reacţia are loc în mediu aproape neutru (*p*H = 5—7, nu alcalin). În aceste condiţii, reac-

tivul Barfoed nu intră în reacție cu acele dizaharide reducătoare care conțin o legătură glicozidică de tip 1,4-α (ca maltoza și lactoza). Pe această cale, acestea din urmă se diferențiază ușor de monozaharidele și dizaharidele care au o legătură glicozidică 1,6-α (ca melibioza), și care reduc energic reactivul Barfoed.

c) *Reacția Molisch.* Este o reacție generală a glucidelor. La cîțiva mililitri de extract vegetal se adaugă 2—3 ml de soluție alcoolică de α-naftol 10%. Se agită, apoi, înclinînd eprubeta, se toarnă cu atenție pe pereți (preferabil cu o pipetă) 1—2 ml de acid sulfuric concentrat. La limita între straturi se formează un inel violet. Agitînd amestecul, toată soluția se va colora. Sub acțiunea acidului sulfuric, monozaharidele se transformă prin deshidratare în furfurol (pentozele), în metilfurfurol (metilpentozele) sau în ω-oximetilfurfurol (hexozele). Furfurolul și derivații lui dau cu fenolii (α-naftol, timol) complecși colorați. Folosind timol în loc de α-naftol, se va forma un inel roșu-rubiniu.

d) *Reacția de caramelizare.* La cîțiva mililitri de extract vegetal se adaugă 1—2 ml NaOH sau KOH 20% și se încălzește. În funcție de concentrația glucidelor se obține o culoare brună, brună-gălbuie sau galbenă. Se formează produși de condensare de tipul rășinilor aldehidice. Prin acidularea soluției se degajă puternic un miros caracteristic de caramel.

e) *Reacția fenilosazonelor* (reacția histochimică). O secțiune din bulb de ceapă (secțiune nu prea subțire) se așază pe o lamă de microscopie și se tratează cu cîte o picătură din următoarele două soluții: *a)* 1 g de clorhidrat de fenilhidrazină dizolvat în 10 g de glicerină; *b)* 1 g de acetat de sodiu dizolvat în 10 g de glicerină. Peste acestea se mai adaugă și 2 picături de acid acetic concentrat. Secțiunea tratată în acest fel se acoperă cu o lamelă și se ține în vapori de apă timp de ½ oră (de exemplu, într-o cutie de sterilizare pentru seringi medicale). După răcire, secțiunea se examinează la microscop. Se observă cristale galbene-aurii de glucosazonă, în formă de ace lungi, care formează snopi sau sfere (fig. 115).

2) *Reacțiile de diferențiere a aldozelor de cetoze.* a) *Reacția Selivanov.* La cîțiva mililitri dintr-o soluție 1—2% de fructoză sau de extract de pere (care sînt bogate în fructoză) se adaugă 2—3 ml de acid clorhidric 25% (reactivul 4 *d*) și puțină rezorcină (un vîrf de cuțit). Amestecul se va fierbe ușor. Soluțiile care conțin fructoză sau zaharoză se colorează repede în roșu-deschis. Sub acțiunea acidului clorhidric, fructoza se transformă în oximetilfurfurol (v. reacția Molisch), care formează un produs colorat de

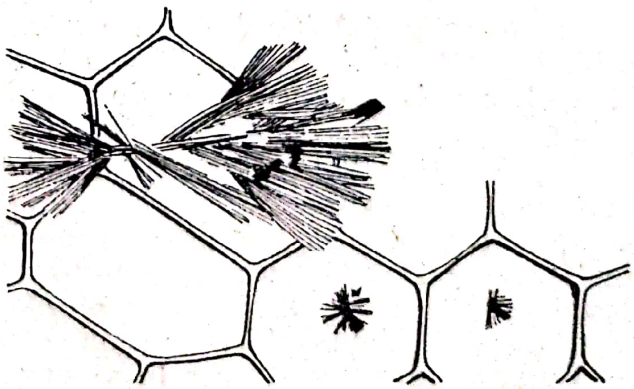


Fig. 115. Cristale de glucosazonă în celulele bulbului de ceapă, x 200 (după Brugovitzky).

condensare cu rezorcina (meta-dioxibenzen). Reacţia este caracteristică cetozelor; aldozele nu o dau sau o dau foarte slab şi numai în prezenţa acidului clorhidric concentrat, după o fierbere îndelungată.

b) *Reacţia cu acid sulfuric.* La cîţiva mililitri de soluţie de fructoză sau extract vegetal se adaugă cu atenţie pe pereţii eprubetei 1—1,5 ml de acid sulfuric concentrat; în prezenţa fructozei se formează la limita între straturi un inel brun. Glucoza şi în general aldozele nu dau această reacţie sau o dau foarte slab.

Experienţa nr. 157

EXTRAGEREA ŞI REACŢIILE DE IDENTIFICARE A DIZAHARIDELOR

Dizaharidele (biglucidele) se formează din două molecule de monozaharide prin eliminarea unei molecule de apă. Dacă la formarea acestei molecule de apă au participat tocmai grupările reducătoare (aldehidice sau cetonice) din monozaharidele respective, atunci se formează un dizaharid care nu reduce soluţia Fehling (de exemplu, zaharoza). Dacă una dintre grupările reducătoare rămîne liberă, se formează un dizaharid reducător (de exemplu, maltoza).

1) *Zaharoza.* Este dizaharidul cel mai răspîndit în regnul vegetal. În cea mai mare cantitate ea se găseşte în sfecla de zahăr (12—18%) şi în trestia-de-zahăr (13—15%). În cantităţi mai reduse ea se găseşte aproape în toate fructele. Pentru a pune în evidenţă zaharoza din sfecla-de-zahăr, rădăcina acesteia se mărunţeşte sau se răzuieşte; 20 g din materialul mărunţit se freacă într-un mojar cu 50 ml de apă caldă (60°C). Amestecul se lasă liniştit 15—20 minute, pe urmă se filtrează. Pentru probele comparative se foloseşte o soluţie 1—2% de zaharoză pură.

2) *Maltoza.* Se găseşte în cantităţi considerabile în seminţele germinate de orz. După 3—4 zile de la germinare, plantulele se supun unei uscări la temperatura camerei, pe urmă se macină sau se freacă într-un mojar. Făina de malţ astfel obţinută se fierbe cu apă şi se filtrează. (Din seminţe de orz negerminate, maltoza nu se poate pune în evidenţă.)

a) *Reacţia Fehling.* Zaharoza pură nu reduce reactivul Fehling, în schimb maltoza îl reduce. Sfecla-de-zahăr conţine, pe lîngă zaharoză, şi unele glucide reducătoare; de aceea, extractul obţinut din sfecla-de-zahăr reduce într-o măsură oarecare reactivul Fehling.

b) *Reacţiile Barfoed şi Selivanov* sînt negative atît în cazul zaharozei cît şi al maltozei.

c) *Hidroliza.* Se iau într-o eprubetă circa 5—6 ml de soluţie de maltoză, iar în alta tot atîta soluţie de zaharoză. Se adaugă în ambele eprubete cîte 1 ml de acid clorhidric 10% (reactivul 4 *f*), şi se fierbe uşor circa 5 minute. Sub acţiunea acizilor minerali (HCl), dizaharidele se descompun, dînd naştere la monozaharidele din care s-au format.

În cazul zaharozei, procesul acesta se mai numeşte şi *invertire*, fiindcă se inversează direcţia puterii rotatorii a soluţiei. Amestecul re-

Scanned with OKEN Scanner

zultat din hidroliză (invertire), format din glucoză și fructoză în cantități echivalente, se numește *zahăr invertit*. Rotația specifică a zaharozei este: $[\alpha]_D^{20°} = +66{,}5°$, iar după inversiune $[\alpha]_D^{20°} = -21{,}9°$.

Soluțiile obținute în urma hidrolizei vor fi neutralizate cu NaOH 20% în prezența fenolftaleinei (reactivul 33) și folosite pentru executarea următoarelor reacții:

d) *Reacțiile Fehling, Barfoed și Selivanov* sînt toate pozitive cu hidrolizatul zaharozei, fiindcă acesta conține atît glucoză cît și fructoză.

e) Maltoza hidrolizată dă *reacția Fehling și Barfoed*; nu dă în schimb reacția *Selivanov*.

Experiența nr. 158

SEPARAREA GLUCIDELOR PRIN METODA CROMATOGRAFICĂ PE HÎRTIE

Cu ajutorul acestei metode se pot separa dintr-un amestec (de exemplu, sucuri de fructe, miere) glucidele, ca: glucoza, fructoza, maltoza, zaharoza, xiloza, riboza etc.

Metoda ascendentă. Pentru scopuri didactice se poate improviza un dispozitiv simplu, ca cel reprezentat în figura 116. Ca sistem de dizolvanți pentru cromatografiere se folosește alcool *n*-butilic-acid acetic-apă, în proporție de 4 : 1 : 5 (faza organică). Din cauza esterificării, sistemul de dizolvanți trebuie proaspăt preparat, în felul următor: într-o pîlnie de separare se amestecă bine 40 ml de alcool *n*-butilic, 10 ml de acid acetic glacial și 50 ml de apă, apoi se lasă să se separe. Stratul inferior apos se aruncă. Stratul superior, faza organică, servește ca sistem de dizolvanți pentru cromatografierea glucidelor. Se pune acest amestec într-un strat subțire pe fundul unui cilindru de sticlă, de exemplu un borcan Rex, care servește ca vas cromatografic *(a)*, și apoi se acoperă cu capacul, ca să se obțină o atmosferă saturată cu vaporii dizolvantului.

Între timp, se taie din hîrtia cromatografică (Whatman nr. 1 sau Schleicher-Schüll nr. 2043 b) o fîșie de circa 15×28 cm și la 1 cm de la capătul inferior se marchează cu creion grafic (nu chimic) linia de „start", pe care, la

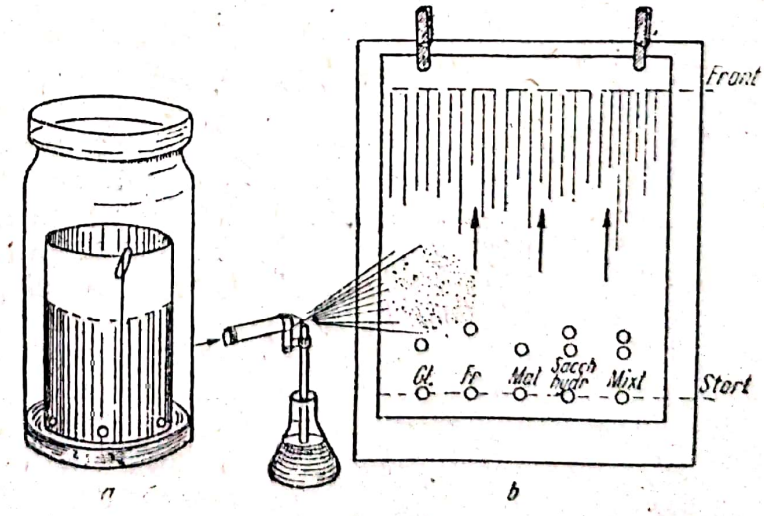


Fig. 116. Dispozitiv pentru cromatografierea glucidelor cu metoda ascendentă.

distanțe de cîte 2,5 cm, se marchează cu mici cercuri locul probelor. Aici se pune cu o micropipetă sau pipetă Pasteur cîte o picătură din amestecul de glucide (de exemplu, sucuri de fructe, miere diluată la 1%), respectiv din soluții pure de glucoză, fructoză, maltoză și zaharoză 1% (soluții test). Petele se usucă la aer sau în etuvă electrică la 40—60°C. Apoi hîrtia cromatografică se rulează în formă de cilindru și se coase cu ață albă, în așa fel ca marginile să se atingă exact, dar fără să se suprapună. Hîrtia astfel pregătită se introduce în dizolvantul din vasul cromatografic, în așa fel ca să nu atingă pereții vasului. Se acoperă și se lasă pînă cînd „frontul" de dizolvant se ridică pînă aproape de capătul superior al hîrtiei (la circa 2 cm). După marcarea frontului cu creion grafic, hîrtia se usucă, agățînd-o într-un loc cald, aerisit, și după uscare se derulează.

Glucidele separate se pun în evidență prin „detectarea" petelor. Pentru aceasta, cromatograma se fixează cu 2 cleme de material plastic pe o placă de sticlă se așază vertical și se pulverizează *(b)* cu un reactiv specific pentru glucide, de exemplu *anilină-difenil-amină-acid fosforic*; înainte de utilizare se amestecă o soluție etanolică 4% de anilină cu o soluție etanolică 4% de difenilamină și cu acid fosforic 85% în proporție de 5 : 5 : 1. După pulverizare, cromatograma se încălzește cu precauție timp de 5 minute la 80°C. Reacțiile de culoare date de diversele zaharuri sînt diferite, de exemplu glucoza se colorează în albastru-verzui, fructoza în portocaliu, zaharoza în roșu-cărămiziu, maltoza în albastru.

Identificarea glucidelor se face pe baza culorii obținute prin detectarea petelor și pe baza valorilor de R_f în sistemul de dizolvanți întrebuințat. (R_f = raportul între distanța petei de substanță de la linia de start și distanța frontului de dizolvant de linia de start.)

Valorile R_f ale glucidelor în sistemul *n*-butanol-acid acetic-apă 4 : 1 : 5 sînt următoarele (din Brauner-Bukatsch):

xiloză	0,28	fructoză	0,23
arabinoză	0,21	galactoză	0,16
riboză	0,31	maltoză	0,11
glucoză	0,18	zaharoză	0,14

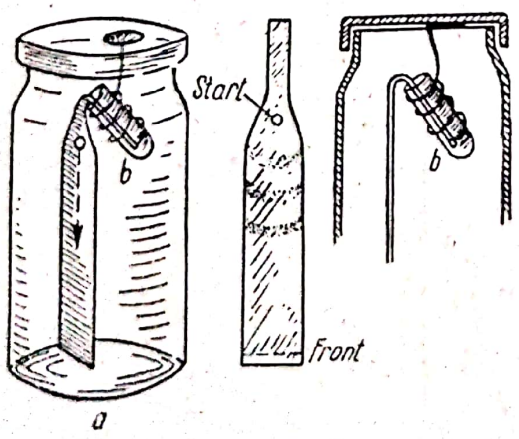


Fig. 117. Dispozitiv pentru cromatografierea glucidelor cu metoda descendentă.

Metoda descendentă. Avantajul acestei metode este că separarea glucidelor este mai bună și mai rapidă. Pentru scopuri didactice se poate întrebuința un dispozitiv improvizat, ca cel din figura 117. Se folosește același sistem de dizolvanți ca și la metoda ascendentă. Din acest dizolvant se pune o cantitate mică pe fundul vasului cromatografic *(a)* pentru saturarea atmosferei și se umple cu el pînă la jumătate tubușorul *(b)* suspendat oblic de capacul vasului. Hîrtia cromatografică se

taie în formatul arătat în figură și după punerea și uscarea petei se introduce capătul îngust al ei în dizolvantul din tubușor. Hîrtia trebuie să stea suspendată liber în vas, fără să atingă pereții sau fundul vasului.

Uscarea și detectarea cromatogramei se fac ca la metoda ascendentă.

Experiența nr. 159

HIDROLIZA ENZIMATICĂ A ZAHAROZEI

Invertaza (zaharaza, *β-h* fructozidaza) hidrolizează zaharoza în componentele ei, în glucoză și fructoză (zahăr invertit). Invertaza se găsește aproape în toate speciile de drojdii. Ea este frecventă și în diferitele mucegaiuri și bacterii. A fost, de asemenea, pusă în evidență în multe organe ale plantelor superioare (în frunze, tulpini, rădăcini, semințe și fructe).

Invertaza are *p*H-ul optim între 4,4 și 4,6, iar temperatura optimă între 53 și 56°C.

Extractul de invertază se prepară după metoda *Bertrand:* 20 g de drojdie presată se freacă foarte bine într-un mojar cu 10—15 g de nisip de cuarț și cu 5 ml de apă. Cînd pasta este omogenă, se mai adaugă 40 ml de apă și se lasă în liniște 30 minute, agitînd din cînd în cînd, după care se filtrează sau se centrifughează.

Fiindcă însuși extractul de invertază are o acțiune reducătoare față de reactivul Fehling, se recomandă executarea unei probe oarbe.

Se iau în două eprubete cîte 5 ml de soluție de zaharoză 10%, care se acidulează cu 3—4 picături de acid acetic, ca să fie asigurat *p*H-ul optim pentru acțiunea invertazei. La una dintre eprubete se adaugă 1 ml de extract de invertază, la cealaltă 1 ml de extract de invertază inactivată prin fierbere. În a treia eprubetă se iau 5 ml de apă distilată și 1 ml de soluție de invertază activă (proba oarbă). Eprubetele se vor ține 30 minute într-o baie de apă la 50°C.

Se vor executa reacțiile Fehling și Selivanov la toate trei probele. Invertaza activă hidrolizînd zaharoza în glucoză și fructoză, ambele reacții vor fi pozitive. Invertaza inactivată nu hidrolizează zaharoza, deci reacțiile respective vor fi negative, respectiv identice cu cele din proba oarbă.

Experiența nr. 160

DOZAREA GLUCIDELOR REDUCĂTOARE

a) *Pregătirea extractului vegetal.* Materialul vegetal se mărunțește, de preferință pe o răzătoare de sticlă. Se ia o probă medie de circa 15—35 g din materialul mărunțit. Aceasta se cîntărește cu o precizie de 0,01 g într-un balon Erlenmeyer de 200—250 ml. Se adaugă 100—150 ml de apă distilată și se încălzește 30 minute într-o baie de apă la 85—95°C. Conținutul se agită din cînd în cînd. După răcirea

Scanned with OKEN Scanner

lichidului din balon, acesta se filtrează într-un balon cotat de 250 ml. Se aduce la semn cu apă distilată (spuma eventual formată se elimină prin adăugarea unei picături de eter). Se agită bine lichidul din balon și se folosește pentru determinarea atît a conținutului de zahăr cît și a acidității totale (experiența nr. 182).

b) *Defecarea.* Înaintea determinării zahărului, toate substanțele de natură străină trebuie îndepărtate din soluția de examinat (în primul rînd proteinele). Se pipetează 20—25 ml din extractul apos într-un balon cotat de 100 ml și se adaugă 2 ml de soluție de acetat de plumb pentru defecarea proteinelor (reactivul 1). Concomitent cu proteinele precipită și pigmenții vegetali și acizii organici. După sedimentarea precipitalului, se va controla dacă defecarea a fost completă. În acest scop se mai adaugă 1—2 picături din reactivul de defecare, care nu trebuie să provoace o nouă tulbureală în soluție.

Excesul de plumb se elimină prin adăugarea a 5—10 ml de soluție saturată de Na_2SO_4 (reactivul 70). Amestecul se lasă liniștit cel puțin 1—2 ore. Pe urmă (prin adăugarea a 1—2 picături de Na_2SO_4) se controlează dacă precipitarea plumbului ($PbSO_4$) a fost completă. Se aduce la semn cu apă distilată și, după agitare, lichidul din balon se filtrează printr-un filtru cutat uscat într-un balon Erlenmeyer. În filtratul limpede obținut se va determina conținutul de zahăr.

c) *Determinarea glucidelor reducătoare după Bertrand.* Principiul metodei Bertrand se bazează pe reacția Fehling. Precipitatul roșu de oxid cupros (Cu_2O) se filtrează și se oxidează cu ajutorul unei sări ferice:

$$Cu_2O + Fe_2(SO_4)_3 + H_2SO_4 = 2CuSO_4 + 2FeSO_4 + H_2O$$

În cursul reacției se formează o cantitate echivalentă de sulfat feros ($FeSO_4$), care se va titra cu o soluție de $KMnO_4$:

$$10FeSO_4 + 2KMnO_4 + 8H_2SO_4 = 5Fe_2(SO_4)_3 + K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 8H_2O$$

Deoarece reacția de reducere a cuprului (reacția Fehling) nu este stoichiometrică, nu se poate determina prin calcul cantitatea de glucide corespunzătoare oxidului cupros, ci se folosesc tabele în care datele au fost stabilite empiric.

Modul de lucru. Din extractul defecat se pipetează 20 ml într-un balon Erlenmeyer de 150 ml. (Această soluție nu trebuie să conțină mai mult de 100 mg de zahăr; este preferabil ca concentrația soluției să fie cuprinsă între limitele 10—50 mg. Dacă soluția cercetată este mai concentrată, se diluează sau se ia o cantitate mai mică din ea, care se completează pînă la 20 ml cu apă distilată. Dacă soluția cercetată este prea diluată, se va concentra prin evaporare.) Se adaugă 20 ml de soluție Bertrand I (reactivul 61 *a*), apoi 20 ml de soluție Bertrand II (reactivul 61 *b*), se încălzește cît mai repede (circa 1 minut) pînă la fierbere și se fierbe liniștit exact 3 minute de la începutul fierberii. (În cazul analizelor de serie se recomandă folosirea a două becuri: unul

mai puternic, pentru încălzirea lichidului la fierbere, celălalt mai mic, pentru menținerea fierberii lente). În orice caz, trebuie evitată fierberea prea puternică, deoarece aceasta ar duce la evaporarea lichidului.

Conținutul balonului se răcește brusc sub robinet și se lasă liniștit în poziție oblică pentru ca precipitatul să se sedimenteze (circa 1—2 minute). Se filtrează printr-un creuzet filtrant 1 G_4 sau printr-un tub Allihn umplut cu vată de sticlă, la trompă de vid (fig. 118). Aceasta din urmă constituie o filtrare destul de rapidă, chiar și în lipsa unei trompe. Straturile de vată de sticlă așezate după indicația figurii se presează ușor și se spală cu apă fierbinte.

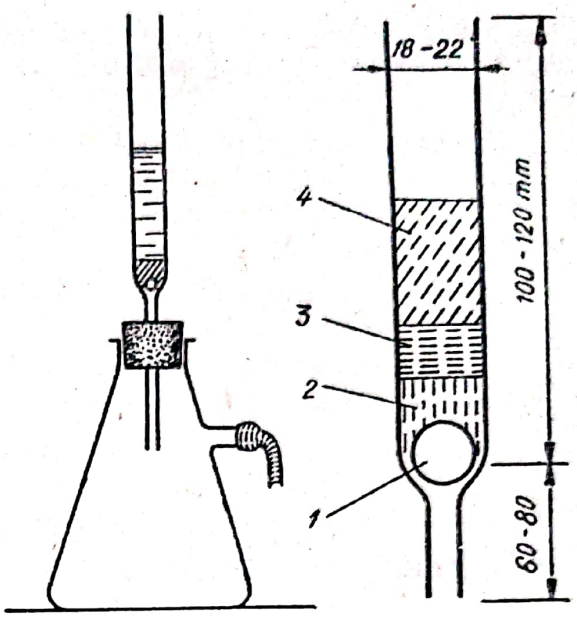


Fig. 118. Filtrarea la trompă de vid prin tubul Allihn (după Ermakov, modificat de E. Brugovitzky).

1 — bilă de sticlă; 2 — vată de sticlă tăiată în așa fel ca să aibă fibre lungi; 3 — vată de sticlă tăiată în așa fel ca să aibă fibre mai scurte; 4 — vată de sticlă mojarată.

Este foarte important ca soluția de deasupra precipitatului să rămînă albastră intensă (deci să rămînă un exces de săruri cuprice). În caz contrar, determinarea trebuie repetată cu o soluție mai diluată.

Filtrarea trebuie să se facă în așa fel, încît să ajungă cît mai puțin precipitat pe filtru. Se spală precipitatul de trei ori prin decantare cu apă fierbinte. Operațiile trebuie executate repede, pentru a evita oxidarea oxidului cupros în contact cu aerul, și din aceleași motive precipitatul trebuie să fie mereu acoperit cu soluție. Se schimbă vasul de trompă cu unul perfect curat, și precipitatul din balon se dizolvă în 5 ml de soluție Bertrand III (reactivul 61 *c*). Soluția obținută se va trece pe filtru și se va lăsa în contact cu precipitatul de pe filtru pînă la dizolvarea completă a acestuia. Se trage la trompă cu grijă și se spală balonul Erlenmeyer de 3 ori cu cîte 5 ml de soluție Bertrand III. În sfîrșit, se spală atît flaconul cît și filtrul cu apă distilată caldă. Soluția verde din vasul de trompă se titrează imediat cu o soluție de $KMnO_4$ 0,1*n* (reactivul 50 *a*) pînă la apariția unei culori roz. (Culoarea trebuie să se mențină timp de 30 secunde).

Calculul rezultatului. Numărul de mililitri de soluție de permanganat de potasiu 0,1 *n* întrebuințați la titrare se înmulțește cu factorul soluției și apoi cu titrul în cupru (1 ml 0,1 *n* $KMnO_4$ corespunde la 6,36 mg Cu). Produsul rezultat exprimă în miligrame cuprul redus de zahărul conținut în cei 20 ml de soluție luați pentru dozare.

Din tabele se scoate cantitatea de zahăr, în miligrame, corespunzătoare miligramelor de cupru determinate, care apoi se raportează la

cantitatea substanței inițiale. Rezultatul obținut se poate exprima la urmă în procente raportate la materialul proaspăt sau la substanța uscată.

Exemplu. Extractul făcut din 34,82 g de mere a fost diluat la 250 ml. S-au defecat din acest extract 25 ml, care pe urmă au fost aduși la 100 ml. La 10 ml din soluția defecată s-au întrebuințat 9,45 ml $KMnO_4$ 0,1 *n* (factorul = 1,0483).

$9{,}45 \times 1{,}0483 \times 6{,}36 = 62{,}98$ mg cupru = 32,10 mg glucoză.

(Cantitatea de glucoză se scoate prin interpolare din tabelul 10. Dacă la 62,80 mg cupru corespund 32 mg glucoză, 62,98 mg cupru sînt echivalente cu 32,10 mg de glucoză.)

Tabelul 10

TABEL BERTRAND

Pentru determinarea glucozei				Pentru determinarea zahărului invertit			
Cupru mg	Glucoză mg	Cupru mg	Glucoză mg	Cupru mg	Zahăr invertit mg	Cupru mg	Zahăr invertit mg
20,4	10	70,1	36	20,6	10	70,3	36
22,4	11	72,0	37	22,6	11	72,2	37
24,3	12	73,8	38	24,6	12	74,0	38
26,3	13	75,7	39	26,5	13	75,9	39
28,3	14	77,5	40	28,5	14	77,7	40
30,2	15	79,3	41	30,5	15	79,5	41
32,2	16	81,1	42	32,5	16	81,2	42
34,2	17	82,9	43	34,5	17	83,0	43
36,2	18	84,7	44	36,4	18	84,8	44
38,1	19	86,4	45	38,4	19	86,5	45
40,1	20	88,2	46	40,4	20	88,3	46
42,0	21	90,0	47	42,3	21	90,1	47
43,9	22	91,8	48	44,2	22	91,9	48
45,8	23	93,6	49	46,1	23	93,6	49
47,7	24	95,4	50	48,0	24	95,4	50
49,6	25	97,1	51	49,8	25	97,1	51
51,5	26	98,9	52	51,7	26	98,8	52
53,4	27	100,6	53	53,6	27	100,6	53
55,3	28	102,3	54	55,5	28	102,3	54
57,2	29	104,1	55	57,4	29	104,0	55
59,1	30	105,8	56	59,3	30	105,7	56
60,9	31	107,6	57	61,1	31	107,4	57
62,8	32	109,8	58	63,0	32	109,2	58
64,6	33	111,1	59	64,8	33	110,9	59
65,5	34	112,8	60	66,7	34	112,6	60
68,5	35	114,5	61	68,5	35	114,3	61

Coeficientul de diluare este $10 \times 10 = 100$.

Deci în cantitatea de 34,82 g de mere s-au găsit 3 210 mg = 3,21 g glucoză.

$$\text{Glucoză } \% = \frac{3{,}21 \times 100}{34{,}82} = 9{,}22\%.$$

Experiența nr. 161

DOZAREA ZAHAROZEI

Cel mai important zahăr nereducător din regnul vegetal este zaharoza. Aceasta se poate doza numai după hidroliza (invertirea) ei: 25 ml de soluție defecată se pipetează într-un balon cotat de 50 ml. Se adaugă 1,5 ml HCl concentrat și se ține 5 minute în baie de apă la 68—70°C. Se răcește rapid conținutul balonului și se neutralizează cu NaOH 30% în prezență de metiloranj 0,1%. Se aduce la semn și se amestecă. În 20 ml de hidrolizat se determină cantitatea de zahăr după Bertrand. Rezultatul obținut reprezintă zahărul total, care este suma zahărului direct reducător cu cel rezultat prin invertire. Zahărul total, în general, se exprimă în zahăr invertit.

Înmulțind cu 0,95 diferența rezultată din zahărul total și zahărul determinat înainte de invertire, se obține cantitatea respectivă de *zaharoză*.

Experiența nr. 162

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A AMIDONULUI. REACȚIA CU IOD

Amidonul *(amylum)* este format din unități de maltoză, avînd o greutate moleculară de 110 000—140 000. Se găsește ca substanță de rezervă în diferite organe ale plantelor sub formă solidă. Forma, mărimea și structura granulelor de amidon arată variații caracteristice după specii.

Punerea în evidență a amidonului se face cel mai simplu prin reacția lui cu iodul. Cîteva granule de amidon și 10 ml de apă se încălzesc într-o eprubetă pînă la fierbere. Cleiului astfel obținut i se va adăuga, după răcire, o picătură de soluție de iod (Lugol, reactivul 64). Se observă imediat o culoare albastră intensă (albastru de indigo). Dacă culoarea este prea închisă, soluția se va dilua cu apă pînă cînd devine albastră transparentă. În urma încălzirii ușoare a soluției pe baie de apă la 60°C, culoarea albastră dispare, iar după răcire reapare. Explicația fenomenului este următoarea: reacția amidonului cu iodul are la baza ei o adsorbție reversibilă a iodului de către amidon. Dacă acest echilibru coloidal este deranjat de un factor exterior (încălzire), iodul se eliberează și culoarea dispare. În urma răcirii are loc din nou fenomenul de adsorbție și apare culoarea caracteristică.

Unii presupun că se formează o combinație chimică cu următoarea compoziție aproximativă: $C_{24}H_{40}O_{20}J_4HJ$ (J = 18%). Labilitatea acestui compus ar explica dispariția culorii albastre și în acele cazuri cînd i se adaugă vreo substanță care intră în reacție cu iodul ($AgNO_3$, tanin, alcool etilic, baze).

Cu ajutorul reacției cu iodul, amidonul poate fi pus în evidență în mod direct în diferitele organe vegetale (semințe de grîu sau porumb, tăiate în două) și în produsele lactate falsificate cu făină sau amidon.

Glicogenul dă în aceleași condiții o coloratie roșie-brună.

Experiența nr. 163

SEPARAREA AMIDONULUI ÎN AMILOPECTINĂ ȘI AMILOZĂ

Amidonul nu este un produs unitar, ci este alcătuit din două componente, numite amiloză și amilopectină, care pot fi separate pe baza solubilității lor diferite în apă. Amiloza constituie părțile interne ale granulei de amidon; este solubilă în apă fierbinte, iar cu iodul dă o coloratie albastră. Amilopectina formează părțile exterioare ale granulei, este insolubilă în apă, iar cu iodul dă o coloratie violetă. Ambele au structuri asemănătoare, fiind alcătuite din molecule de α-glucoză identic legate între ele (prin legături semiacetalice), dar se deosebesc prin greutatea lor moleculară, amilopectina avînd o greutate moleculară mult mai mare (135 000) decît amiloza (80 000). Amilopectina conține și fosfor.

Modul de lucru. Se introduc 10 g de amidon de cartof într-un balon peste care se toarnă 10 ml KOH 0,1 *n* (reactivul 39) și 70 ml de apă distilată. Se încălzește 15 minute la 50°C, agitînd cît mai des. Se răcește apoi conținutul balonului și se tratează cu 11 ml de acid sulfuric 1 *n* (reactivul 8 *a*) și se diluează totul cu 500 ml de apă. Se amestecă pentru omogenizare și se lasă apoi în liniște 24 de ore. După scurgerea acestui interval de timp, lichidul din balon formează 2 straturi distincte, ușor de observat: în partea inferioară, un depozit solid alb (amilopectina), iar deasupra lui, un lichid opalescent, care conține amiloza. Cele două straturi se separă prin decantare. Se iau din lichidul opalescent 2—3 ml, se tratează într-o eprubetă cu o soluție de iod (reactivul 64) și se observă coloratia albastră caracteristică amilozei. Stratul inferior se fierbe cu apă, obținîndu-se astfel un lichid vîscos, care conține amilopectina; cîțiva mililitri din lichidul obținut se răcesc și se tratează cu 1 ml de soluție de iod; se observă apariția coloratiei violete pe care o dă amilopectina cu iodul.

Experiența nr. 164

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A FOSFORULUI DIN AMIDON

Se topesc într-un creuzet de porțelan 2 g KNO_3, în care pe urmă se introduc treptat 2 g de amidon sau făină. Încălzirea se continuă pînă la obținerea unei cenuși albe-gri.

După răcire, cenușa se dizolvă în cîțiva mililitri de acid azotic 5% (reactivul 3 *b*) și se filtrează. Filtratului clar i se mai adaugă acid azotic concentrat și molibdat de amoniu 10% și se încălzește la fierbere.

Scanned with OKEN Scanner

Formarea unui precipitat galben indică prezența fosforului (experiența nr. 89).

Amidonul obținut din grîu, porumb sau cartof conține 0,01—0,08% fosfor.

Experiența nr. 165

HIDROLIZA ACIDĂ A AMIDONULUI

Amidonul încălzit cu acid clorhidric diluat se desface în glucoză. În cursul acestei descompuneri se formează dextrine și maltoza ca produși intermediari.

Se pregătește un clei de amidon 1%: se agită bine 1 g de amidon pur într-o eprubetă cu 10 ml de apă distilată rece, după care se toarnă în 90 ml de apă distilată în fierbere. Se trec 50 ml din această soluție într-un balon Erlenmeyer de 100 ml, la care se adaugă 10 ml HCl 10% (reactivul 4 *f*). După agitarea balonului, acesta se introduce într-o baie de apă în fierbere. Se va lua o probă din conținutul balonului imediat după așezarea lui în baie și pe urmă la intervale de cîte 2 minute, pînă la terminarea hidrolizei.

La toate probele se execută reacția cu iodul. În acest scop se așază 20 de eprubete pe un stativ. În fiecare dintre aceste eprubete se introduc 10 ml de soluție foarte diluată de iod (de culoare galbenă-deschis, reactivul 64). Probele luate din hidrolizat cu pipeta se vor trece în eprubetele pregătite cu iod. În afară de aceasta, la începerea și la terminarea experienței se mai iau din balon cîte 3 probe pentru ca să se poată executa și reacțiile Barfoed, Fehling și Selivanov (experiența nr. 156). Rezultatele hidrolizei sînt indicate în tabelul 11.

Tabelul 11

Rezultatul hidrolizei

Produșii hidrolizei	Reacția cu iodul	Reacția Fehling
Amidon	albastru de indigo	negativă
Amilogen	violetă	negativă
Amilodextrină	violetă-purpurie	1%
Eritrodextrină	roșie-brună	2—3%
Acrodextrină	negativă (culoarea iodului)	10%
Maltodextrină	negativă (culoarea iodului)	30—40%
Maltoză	negativă (culoarea iodului)	100%
α-*D* -glucoză	negativă (culoarea iodului)	100%

Înaintea executării reacțiilor Barfoed și Fehling, soluțiile trebuie neutralizate prin adăugarea cîtorva picături de NaOH 20% în prezența hîrtiei de turnesol.

Reacţia Barfoed pozitivă relevă că sub acţiunea acidului clorhidric amidonul este descompus pînă la glucoză. (Sub acţiunea enzimei amilaza, hidroliza merge numai pînă la maltoză.) Nici soluţia originală, nici cea hidrolizată nu dau reacţia Selivanov, fiindcă în compoziţia amidonului nu se găsesc cetoze.

Experienţa nr. 166

HIDROLIZA ENZIMATICĂ A AMIDONULUI

Enzima *amilaza (diastaza)* este foarte răspîndită în regnul vegetal. Ea se găseşte în seminţe de cereale germinate, în tuberculi de cartof, în drojdii, mucegaiuri, bacterii etc.

Din punct de vedere practic, prezenţa amilazei este importantă în orzul germinat (malţ), care este folosit în fabricarea berii şi a spirtului, pentru hidroliza amidonului.

Există două tipuri de amilaze: α- şi β-amilază. În seminţele germinate ale cerealelor se găsesc ambele tipuri de amilază.

1) *Extragerea amilazei.* Seminţe de grîu sau de orz germinate timp de 3—5 zile se usucă la temperatura camerei. Din produsul obţinut (malţul) se iau 10 g şi se freacă bine cu puţin nisip de cuarţ şi 20 ml de apă distilată într-un mojar de porţelan. Lichidul se completează cu 80 ml de apă şi se lasă liniştit timp de 30 minute, agitînd din cînd în cînd. Se filtrează prin vată, apoi prin filtru cutat sau se centrifughează. Filtratul obţinut slab opalescent conţine amilaza.

Amilaza hidrolizează amidonul în maltoză, formînd dextrine ca produşi intermediari. Maltoza se descompune în glucoză sub acţiunea *maltazei*, care însoţeşte de obicei cele două amilaze. Mersul hidrolizei amidonului se poate urmări cu ajutorul reacţiei cu iodul şi prin apariţia însuşirilor reducătoare (experienţa nr. 165). Se mai introduce şi o probă oarbă, în care amilaza a fost inactivată prin fierbere.

În două eprubete se introduc cîte 5 ml de clei de amidon 1% (experienţa nr. 165). Într-una dintre eprubete se adaugă 5 ml de soluţie de amilază activă, iar în cealaltă, 5 ml de soluţie de amilază inactivată prin fierbere. Amestecul din eprubete se agită şi acest moment se socoteşte drept începutul experienţei. Eprubetele se aşază în baie de apă la 40 sau 60°C.

La fiecare 2 minute se iau cu o pipetă cîteva picături din ambele eprubete şi se pipetează deasupra unei picături de iod (reactivul 64) din capsulă. La începutul experienţei, ambele soluţii dau coloraţie albastră cu iodul; peste puţin timp însă, prima soluţie începe să dea cu iodul o culoare violetă, apoi roşie şi în cele din urmă reacţia devine negativă. Soluţia de control continuă să dea culoarea albastră caracteristică pînă la sfîrşitul experienţei.

După terminarea hidrolizei, reacţia cu iodul se poate executa şi în eprubete cu cantităţi mai mari din soluţiile respective, ca diferenţele de culori să fie mai evidente.

Scanned with OKEN Scanner

După ce soluția din eprubeta nr. 1 a încetat să mai dea reacția cu iodul, se va executa cu ea și reacția Fehling (experiența nr. 156). Soluția de control din eprubeta nr. 2 rămîne opalescentă pînă la sfîrșitul experienței, iar în soluția hidrolizată opalescența dispare.

În cazul cînd procesul de hidroliză decurge prea repede, experiența se repetă cu o cantitate mai redusă de amilază. Aceasta trebuie aleasă în așa fel ca hidroliza să aibă loc în 10—12 minute.

2) *Mobilizarea amidonului în tuberculii de cartofi germinați.* Se taie longitudinal un tubercul de cartof germinat, în așa fel ca tăietura să treacă prin mai multe „ochiuri". Se spală bine suprafața tăiată cu apă de conductă și se toarnă peste ea soluție diluată de iod (reactivul 64). Se constată că în apropierea ochiurilor nu se mai găsește amidon, deoarece a fost hidrolizat, pe cînd la o anumită distanță țesutul tuberculului se colorează intens în albastru, dovedind prezența amidonului.

3) *Sinteza amidonului din zaharurile frunzei.* Din zaharurile frunzelor se formează amidon și la întuneric, sub acțiunea enzimelor. Din zaharoză, amidonul se sintetizează adesea mai rapid decît din glucoză.

Plantule de *Phaseolus* sau de *Nicotiana* crescute în ghivece, la vîrsta de 2—3 săptămîni, se pun în cameră obscură. Cînd proba de iod Sachs (experiența nr. 133) arată că frunzele sînt lipsite total de amidon (după 1—2 zile), se taie cîteva frunze tinere de fasole sau bucăți de 5×5 cm din frunzele de tutun și se așază cu fața superioară în jos, într-o soluție de zaharoză sau glucoză 2%. Pe frunze putem executa cîteva tăieturi pentru a ușura pătrunderea soluției în țesuturi. Frunzele rămîn în soluție timp de 3—5 zile la întuneric, la 20—22°C. Soluția trebuie schimbată zilnic, pentru a împiedica mucegăirea. După 3—5 zile, frunzele vor fi supuse probei Sachs, care acuma va fi pozitivă, dovedind sintetizarea amidonului.

Experiența nr. 167

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A INULINEI

Inulina este un polizaharid compus din molecule de *D*-fructoză (fructofuranoză). Ea se dizolvă bine în apă caldă, mai greu în apă rece. Soluția de inulină se poate obține în felul următor: se cojesc și se mărunțesc tuberculii plantei *Dahlia* sau rădăcini de *Taraxacum* și se iau circa 20 g de material mărunțit care se încălzește cu 50 ml de apă distilată pe o flacără mică, evitînd fierberea. Soluția se filtrează sau se decantează și se folosește pentru executarea următoarelor reacții:

1) Cîțiva mililitri de soluție de inulină se amestecă cu alcool etilic 96% în proporție de 1 : 3. Inulina precipită încet, sub formă de fulgi albi.

2) Soluția de inulină nu reduce reactivul Fehling (experiența nr. 156), nefiind prezente grupări reducătoare libere.

3) Soluția de inulină supusă hidrolizei reduce reactivul Fehling și dă reacția Selivanov (experiența nr. 156). Executarea hidrolizei: se

Scanned with OKEN Scanner

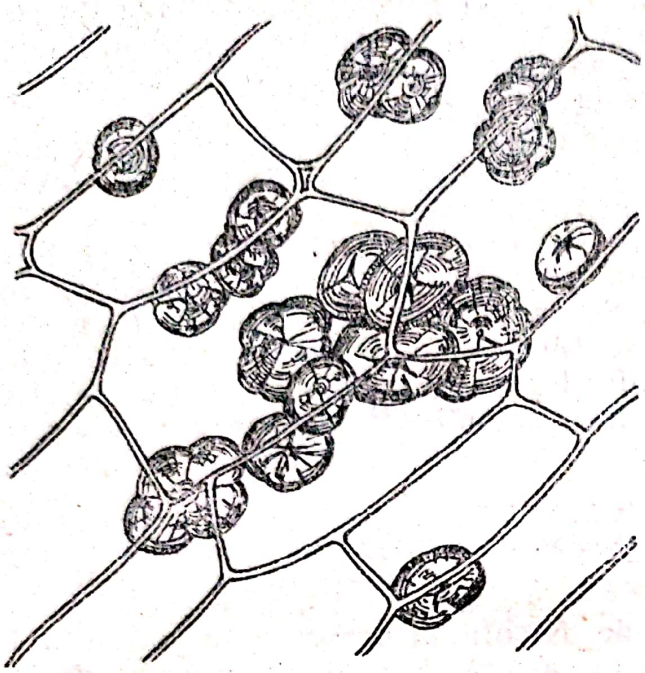


Fig. 119. Sferocristale de inulină din tubercul de Dahlia, x 200 (după Brugovitzky).

iau într-o eprubetă 10 ml de soluție de inulină și 1 ml de acid clorhidric 25% (reactivul 4 *d*). După o fierbere de cîteva minute, hidroliza acidă descompune inulina în molecule de fructoză. Soluția se neutralizează cu NaOH 20%, în prezența hîrtiei de turnesol.

4) Soluția de inulină dă reacția Molisch (experiența nr. 156). Experiența se poate executa și cu secțiuni din tuberculii de *Dahlia*. Acestea dau o colorație violetă, respectiv roșie, cînd sînt tratate cu cîte o picătură de soluție alcoolică de α-naftol sau de timol 10% și acid sulfuric concentrat.

5) Examinarea cristalelor de inulină: din tuberculi de *Dahlia* ținuți 8—10 zile în alcool etilic 70% (reactivul 10 *b*) se fac secțiuni și se examinează la microscop. În celulele din parenchim, în special la colțurile acestor celule, se pot distinge cristalele caracteristice, sferice ale inulinei (fig. 119).

Experiența nr. 168

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A CELULOZEI

Celuloza este materialul de bază al membranelor celulare. Vata, hîrtia de filtru și pînza purificată pot fi considerate ca celuloză pură. Celuloza este un polizaharid compus din molecule de β-glucoză, mai precis din unități de celobioză. Celuloza se hidrolizează mult mai greu decît amidonul; hidroliza ei se poate realiza numai cu ajutorul acizilor minerali concentrați. Drept material de examinare se va folosi vata obișnuită (perii semințelor de bumbac).

1) Celuloza adsoarbe (fixează puternic) coloranții acizi. Se va introduce puțină vată într-o soluție foarte diluată de roșu de Congo (de culoare roz). După 5—10 minute de umectare, firele de vată capătă o colorație roșie, care nu dispare nici după spălare cu apă.

2) Se umectează fire de vată cu o soluție de iod (reactivul 64). Colorația brună obținută dispare repede în urma unei spălări cu apă.

3) O bucată de vată colorată în brun cu soluția de iod se stoarce după 2 minute. O cantitate mică din ea se pune pe o lamă și firele se îndepărtează cu ajutorul unui ac. O picătură de acid sulfuric 75% (reactivul 3 *c*), aplicată pe o parte a firelor, provoacă o umflare și o colorare

Scanned with OKEN Scanner

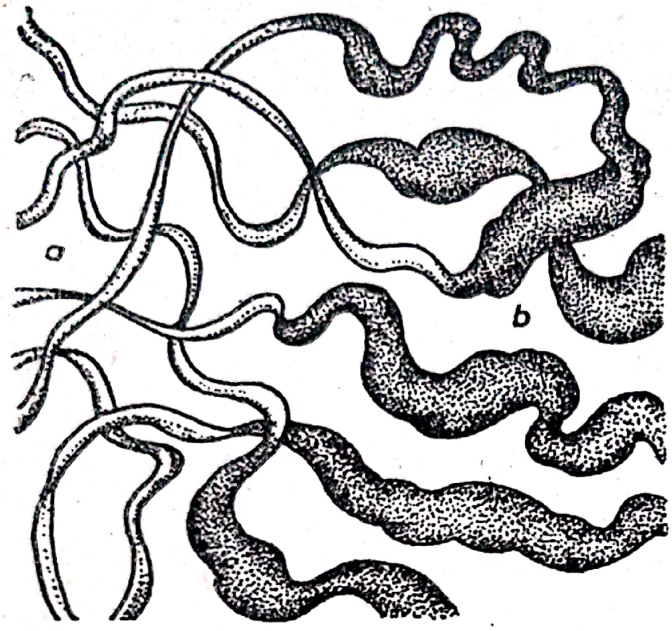


Fig. 120. Umflarea fibrelor de celuloză, x 200: *a* — fire de vată tratate cu soluție de iod; *b* — fire de vată tratate cu soluție de iod și cu acid sulfuric (după Brugovitzky).

în albastru a firelor atinse (fig. 120). Sub acțiunea acidului sulfuric, celuloza se transformă în amiloidă (prima etapă a descompunerii), care dă o colorație albastră cu iodul. Examinarea se face sub microscop.

4) Celuloza tratată cu iodoclorură de zinc (reactivul 44) se colorează în violet.

5) Hidroliza celulozei: într-o eprubetă se dizolvă circa 0,5 g de vată în 10 ml de acid sulfuric 75% (reactivul 8 *c*). Lichidul obținut se toarnă imediat în 50 ml de apă rece, într-un balon Erlenmever, și se fierbe încet 5—10 minute, apoi se răcește.

a) Din soluția obținută prin hidroliză se iau 2 ml într-o eprubetă și se neutralizează cu NaOH 20%, apoi se execută reacția Fehling (experiența nr. 156). Aceasta va fi pozitivă, fiindcă prin hidroliză celuloza s-a descompus în glucoză.

b) Soluția hidrolizată nu dă reacția Selivanov (experiența nr. 156), nefiind prezente cetoze.

c) Hidrolizatul dă reacția Molisch (experiența nr. 156).

6) Dizolvarea celulozei: celuloza este insolubilă în apă. Dizolvantul ei clasic este soluția lui Schweizer (= soluția cuproxam = hidroxid de cupru amoniacal $[Cu(NH_3)_4^{++}(OH)_2]$). Prin neutralizarea acestei soluții cu acizi diluați se reprecipită celuloza (hidrat-celuloză). Se introduce o bucățică de hîrtie de filtru sau de vată în 5—10 ml de soluție Schweizer (reactivul 67) și se agită pînă la dizolvare. Soluția obținută este foarte vîscoasă. Se diluează la dublu cu apă distilată; 2 ml din soluția diluată se trec într-o eprubetă și se adaugă HCl 10% (reactivul 4 *f*), picătură cu picătură, pînă cînd va precipita celuloza sub formă de fulgi albi.

Experiența nr. 169

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A LIGNINEI

În cursul procesului de lignificare, în membranele celulare celulozice se depune lignină. Lignina este o substanță heterociclică cu o structură complicată. Compoziția ei chimică diferă după specie și este însoțită totdeauna de polizaharide.

Pentru identificarea ligninei se cunosc o serie de reacții chimice, dintre care cele mai răspîndite în practică sînt următoarele:

1) *Reacția ligninei cu clorhidrat de anilină* (reacția Runge): Se pune o picătură de soluție de clorhidrat de anilină (1 ml anilină + 1 ml HCl concentrat + 8 ml apă distilată) pe o așchie de brad și pe o hîrtie de calitate inferioară (hîrtie de ziar, sau de împachetat). După cîteva secunde apare o colorație galbenă-aurie. Hîrtia de scris de bună calitate (lipsită de lemn) sau hîrtia de filtru nu dau această reacție.

2) *Reacția ligninei cu floroglucină* (reacția Höhnel): Peste o picătură dintr-o soluție alcoolică de floroglucină 1% (1, 3, 5-trioxibenzen) așezată pe o așchie de brad sau pe hîrtie de ziar se pune imediat o picătură de acid clorhidric concentrat sau acid sulfuric 25% (reactivul 8 *g*). Apare imediat o colorație roșie-vișinie.

3) *Reacția ligninei cu rezorcină:* Se pun o picătură de soluție alcoolică de rezorcină 5% și o picătură de HCl concentrat pe o așchie de brad sau pe hîrtie de ziar; acestea se colorează în violet.

Experiența nr. 170

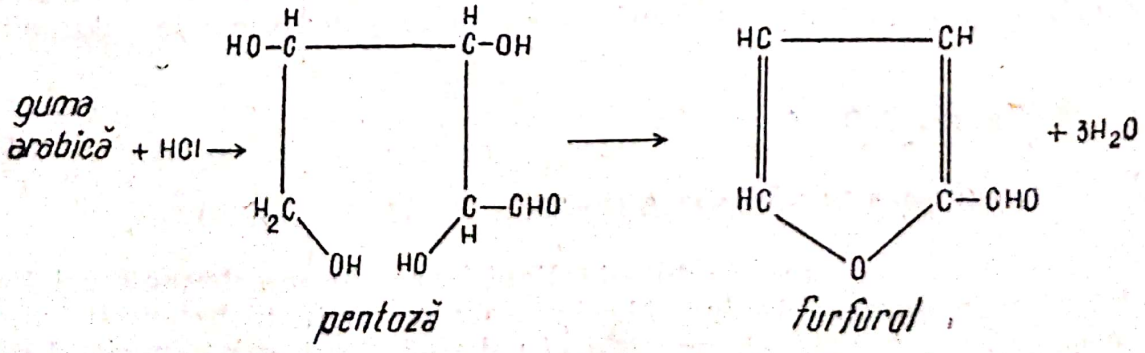
PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A GUMELOR VEGETALE

Gumele vegetale sînt produși naturali sau patologici ai membranelor vegetale. Ele sînt substanțe amorfe, care sub acțiunea hidrolizei acide se descompun în pentoze (în special în arabinoză), în hexoze (galactoză) și în acizi uronici. Foarte cunoscute sînt: guma arabică, produsă de *Acacia senegal*, și guma de cireși sau de alte prunoidee.

1) Gumele prezintă o capacitate de îmbibare foarte puternică. Se iau într-o eprubetă cîteva granule de gumă arabică și atîta apă încît să le acopere. Granulele se îmbibă cu încetul, pe urmă se dizolvă complet, dînd naștere la o soluție vîscoasă, de reacție slab acidă. Încălzirea și prezența acizilor favorizează procesul de îmbibare.

2) Din soluția lor saturată, gumele *pot fi precipitate* cu alcool etilic 96% sub formă de fulgi albi. Precipitatul alb este compus din proteine și arabane.

3) *Reacția furfurolului:* în cursul hidrolizei gumei arabice cu HCl se formează pentoze, care, tot sub acțiunea acidului clorhidric, se transformă în furfurol. Vaporii volatili ai furfurolului dau o colorație caracteristică roșie cu acetatul de anilină:



Furfurol + acetat de anilină → colorație roșie.

La cîteva granule de gumă arabică se adaugă 4—5 ml HCl 10% (reactivul 4 *b*) și se fierbe. După 1—2 minute, o fîșie de hîrtie de filtru se îmbibă cu soluție de acetat de anilină proaspăt pregătită (5 ml anilină + 5 ml acid acetic glacial) și se ține la gura eprubetei. Sub acțiunea vaporilor de furfurol hîrtia se înroșește.

Prin reacția furfurolului se pot pune în evidență și pentozanele (hemicelulozele) din paiele de grîu. În loc de gumă arabică se lucrează cu paie de grîu.

2. PROTEINE (PROTIDE)

Experiența nr. 171

EXTRAGEREA PROTEINELOR

1) *Albumine.* Albuminele se dizolvă în apă distilată. Albuminele vegetale se găsesc mai mult în semințe, însă în cantități reduse. În semințe de cereale (grîu, secară, orz) se găsește *leucozina* (0,4%), iar în leguminoase, *legumelina* (1,25—2%). *Ricina* obținută din semințe de ricin merită un interes deosebit, pentru că a fost cristalizată. Albumine se găsesc în cantități mici și în tuberculii de cartofi.

a) Se mărunțește un tubercul de cartof cojit; materialul ras se trece într-un pahar și peste el se adaugă 100 ml de apă distilată. Amestecul se lasă în repaus timp de 30—40 minute, agitînd din cînd în cînd. Soluția se filtrează prin pîlnie Büchner la trompa de vid sau printr-un filtru cutat.

b) Făina obținută din circa 5 g de malț se amestecă cu 20 ml de apă distilată și se filtrează după 15 minute.

2) *Globuline.* Globulinele nu se dizolvă în apă distilată, în schimb ele se dizolvă ușor în acizi și baze diluate și în unele soluții de săruri. Globulinele mai importante și mai bine studiate sînt cele ce se găsesc în semințele plantelor oleaginoase și leguminoase. Globulinele pot fi puse în evidență din semințele de fasole *(faseolina)*, de lupin *(conglutina)* și din cînepă *(edestina)*.

a) Făina obținută din 20 g de boabe de fasole se amestecă cu 100 ml dintr-o soluție caldă (40—50°C) de NaCl 2—5%. Amestecul se lasă să stea timp de 1—2 ore, agitînd din cînd în cînd. Soluția se filtrează la trompa de vid sau printr-un filtru cutat pentru a obține un lichid limpede. (În caz contrar, filtrarea se va repeta de 2—3 ori prin același filtru.)

b) Globulinele pot fi extrase și din semințe de oleaginoase (semințe de cînepă și de dovleac). În cazul acesta se recomandă extragerea prealabilă a grăsimilor care se găsesc în semințele respective. În acest scop, 20 g din făina de cînepă sau de dovleac se freacă de 2—3 ori cu o cantitate mică de solvent organic (eter, eter de petrol, benzină, tetraclorură de carbon). Lichidul se decantează, iar materialul vegetal se usucă la aer, apoi se pulverizează într-un mojar și se tratează cu 80 ml dintr-o soluție de NaCl 5—10%. Extracția durează ½—1 oră;

Scanned with OKEN Scanner

amestecul trebuie agitat din cînd în cînd. Pe urmă extractul se filtrează la trompa de vid sau printr-un filtru cutat.

3) *Extragerea și separarea proteinelor din gluten.* Semințele de cereale conțin, în afară de amidon, și unele proteine, în primul rînd prolamină și gluteline, care alcătuiesc *glutenul*. Acesta asigură plasticitatea și elasticitatea aluatului obținut din făina respectivă.

Prolaminele se dizolvă foarte bine în alcool etilic 50—90% (reactivul 10 *c*), sînt însă insolubile în apă și în alcool absolut. Ele se mai dizolvă în acizi și baze diluate. În făina de grîu și de secară se găsește prolamina *gliadină*, în cea de orz *hordeină*, în ovăz *avenină*, în porumb *zeină*.

Glutelinele nu se dizolvă în apă, în alcool, nici în soluții de săruri neutre. Ele pot fi dizolvate în acizi și baze diluate; în special în bazele diluate au o solubilitate considerabilă. Se denaturează foarte ușor.

Glutelinele (glutenina) asigură consistența glutenului, iar prolaminele (gliadina) îi conferă capacitatea de adeziune.

Se iau 20 g de făină de grîu, orz sau ovăz, din care se face într-o capsulă de porțelan un aluat consistent cu 10 ml de apă. După 15 minute se pune aluatul într-o bucată de tifon și se frămîntă sub apa de robinet pînă ce șuvoiul de apă va spăla toată cantitatea de amidon din el (apa de spălare nu mai are aspect lăptos și nu dă reacție cu iodul (reactivul 64). Materialul elastic rămas este *glutenul*.

Separarea componenților glutenului (gliadina și glutenina) se face în felul următor: glutenul se freacă într-o capsulă de porțelan de 2—3 ori cu 10—15 ml de alcool etilic 70% (reactivul 10 *b*). Extractul alcoolic care conține gliadina se filtrează printr-un filtru cutat sau printr-o pîlnie Büchner la trompa de vid. Prin adăugare de apă sau mai bine prin evaporarea filtratului pe baie de apă, gliadina se va precipita ireversibil. Precipitatul (gliadina) se filtrează și se spală cu apă rece.

Materialul rămas în capsulă (glutenina) se dizolvă în 15 ml KOH 0,2% sau Na_2CO_3 1%. Dacă lichidul obținut este tulbure, se filtrează prin filtru cutat sau la trompa de vid. Acidul acetic 10% (reactivul 2 *c*) adăugat în picături la filtratul limpede va precipita glutenina. După filtrare, precipitatul acesta se spală cu apă.

Experiența nr. 172

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ ȘI SEPARAREA PROTEINELOR CU AJUTORUL REACȚIILOR DE PRECIPITARE

La executarea reacțiilor ce urmează se vor folosi extractele obținute în experiența precedentă.

Substanțele proteice pot fi precipitate din soluțiile lor în mod reversibil și ireversibil.

Precipitarea reversibilă a proteinelor se poate realiza: 1) prin adăugarea de săruri neutre; 2) în urma tratării lor un timp scurt la o temperatură scăzută (0°C) cu alcool etilic sau acetonă.

1) Sărurile metalelor alcaline și ale magneziului precipită multe proteine din soluțiile lor. Proteinele care formează o dispersie grosieră în soluțiile lor (de exemplu, globulinele) pot fi precipitate mult mai

Scanned with OKEN Scanner

ușor decît acelea care se găsesc într-o dispersie mai fină (de exemplu, albuminele). Globulinele sînt precipitate de sulfatul de amoniu semisaturat, pe cînd în cazul albuminelor precipitarea necesită saturarea completă a soluției cu sarea respectivă.

a) La 5 ml de soluție de globulină (experiența nr. 171, punctul 2) se adaugă un volum egal de soluție saturată de *sulfat de amoniu* (75 g/100 ml) și se agită ușor. După cîteva minute, în soluția semisaturată vor apărea fulgi albi care se depun sub formă de precipitat. Prin diluarea soluției se poate ajunge la dizolvarea precipitatului. Precipitatul filtrat se mai dizolvă și în NaCl 2% sau KOH 5%; toate acestea denotă că precipitarea a fost reversibilă.

b) La 5 ml de soluție de albumină (experiența nr. 171, punctul 1) se adaugă sulfat de amoniu fin pulverizat pînă la saturarea completă a soluției (cînd cristalele adăugate nu se mai dizolvă). Albuminele precipită sub formă de fulgi albi. Eliminînd soluția din eprubetă prin decantare sau filtrare, precipitatul poate fi dizolvat în apă distilată.

c) Pe baza celor arătate, într-un amestec de albumine și de globuline, albuminele pot fi separate de globuline. Amestecînd soluția apoasă de albumină cu soluția de globulină (în NaCl), globulinele precipită prin adăugarea soluției saturate de sulfat de amoniu. După filtrare, din lichidul limpede, albuminele pot fi precipitate prin saturarea soluției cu sulfat de amoniu fin pulverizat.

2) Din soluțiile lor neutre sau slab acide, proteinele pot fi precipitate cu *alcool etilic, acetonă* sau *eter*. Acestea deshidratează particulele coloidale de proteine, ceea ce duce la scăderea solubilității acestora. Prin adăugarea unei cantități mici de sare (de exemplu, NaCl) se poate mări viteza de precipitare, respectiv cantitatea precipitatului. Ionii de semn contrar ai sării sînt adsorbiți la suprafața particulelor de proteină. Această neutralizare a sarcinilor electrice produce precipitarea proteinelor.

Dacă precipitatul format se separă imediat din soluția alcoolică sau acetonică, redizolvarea precipitatului este posibilă. Contactul îndelungat dintre precipitat și alcool duce la denaturarea proteinelor, care nu se mai dizolvă. În acest caz are loc o precipitare ireversibilă.

a) În două eprubete se iau cîte 2 ml de soluție de globulină (în NaCl) și un volum egal de alcool, respectiv acetonă. În alte două eprubete se iau cîte 2 ml de soluție de albumină, cîteva cristale de NaCl și un volum egal de alcool, respectiv acetonă. Eprubetele se agită puternic. Proteinele precipită imediat sub formă de fulgi albi în probele tratate cu acetonă, iar în cele tratate cu alcool, după 5—10 minute.

b) Jumătatea suspensiei din eprubete se trece în alte eprubete. Diluarea acestor probe cu apă distilată duce la dizolvarea precipitatelor.

Precipitarea ireversibilă a proteinelor se poate realiza cu ajutorul sărurilor metalelor grele, acizilor anorganici, acizilor organici și încălzirii.

1) *Cu sărurile metalelor grele* (de Pb, Cu, Ag, Hg), proteinele formează complecși și precipită ireversibil chiar și în cazul unei concentrații reduse a ionilor respectivi. În prezența unui surplus de acetat de

plumb și sulfat de cupru, precipitatul inițial se dizolvă; la adăugarea acestor reactivi trebuie deci evitată adăugarea lor în exces. În 4 eprubete se introduc cîte 2—3 ml de soluție de albumină sau globulină. În prima eprubetă se adaugă picătură cu picătură acetat de plumb 0,5%, în a doua sulfat de cupru 1%, în a treia azotat de argint 3% și în a patra clorură mercurică 0,5%. Se observă formarea instantanee a precipitatelor în toate 4 eprubetele.

Adăugînd un surplus de acetat de plumb, respectiv sulfat de cupru, în eprubetele nr. 1, respectiv nr. 2, se produce dizolvarea precipitatului.

2) *Acizii anorganici* concentrați precipită, de asemenea, proteinele în mod ireversibil (cu excepția acidului ortofosforic). Precipitatele formate se dizolvă în exces de reactiv (cu excepția acidului azotic). Cauza precipitării este atît deshidratarea proteinelor cît și reacționarea lor cu acizii, care duce la formarea de săruri.

Se iau 3 eprubete și în prima se pune 1 ml de acid clorhidric, în a doua acid sulfuric și în a treia acid azotic. Se adaugă la fiecare circa 1 ml de soluție de proteină. La limita dintre straturi apare un inel format dintr-un precipitat alb (inelul lui Heller). După o agitare atentă se observă dizolvarea precipitatului în cazul acidului sulfuric și clorhidric.

3) *Acizii organici* cei mai potriviți pentru precipitarea proteinelor sînt acidul tricloracetic și acidul sulfosalicilic. Acidul tricloracetic precipită numai proteinele, produșii lor de scindare rămînînd în soluție.

În două eprubete se iau cîte 2—3 ml de soluție de proteină. Într-una se adaugă cîteva picături de acid tricloracetic 3%, iar în cealaltă acid sulfosalicilic 20%. Proteinele precipită.

4) *Sub acțiunea căldurii*, proteinele coagulează. Fiind însoțit de denaturarea proteinelor, acest proces este ireversibil. Coagularea proteinelor are loc la temperaturi foarte diferite. Unele proteine coagulează la 50—55°C, altele suportă chiar și temperatura de fierbere, însă un timp scurt. O coagulare perfectă și rapidă se poate realiza la punctul izoelectric al proteinelor, care la majoritatea lor este în jurul valorii *pH*-lui 5.

Se încălzesc 3—4 ml de soluție de globulină sau de albumină pînă la fierbere. Precipitatele de proteină se depun pe fundul eprubetelor.

Experiența nr. 173

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A PROTEINELOR CU AJUTORUL REACȚIILOR DE CULOARE

O parte a reacțiilor caracteristice de culoare se bazează pe prezența anumitor grupări de atomi comune tuturor moleculelor de proteine. Alte reacții de culoare sînt condiționate de anumiți aminoacizi (tirozină, triptofan, fenilalanină, cistină). Nici una dintre reacțiile de culoare nu poate fi însă considerată ca specifică. De aceea, la identificarea precisă a unei proteine trebuie să se folosească toate reacțiile de precipitare și de culoare ale proteinelor.

Scanned with OKEN Scanner

1) *Reacția biuretului* este reacția cea mai importantă a proteinelor. În afară de proteine, reacția este pozitivă și pentru polipeptide, începînd cu tripeptidele. Ea este condiționată de legăturile peptidice (—CO·NH—) dintre aminoacizi. Reacția se obține prin tratarea unei soluții alcaline de proteină cu sulfat de cupru. Apare o colorație de la roz-violet (la peptide) pînă la violet (la proteine). Această reacție se numește reacția biuretului, deoarece biuretul $\left(NH\begin{matrix}CONH_2\\CONH_2\end{matrix}\right)$ dă și el această reacție de culoare.

a) La 4—5 ml de soluție de proteină ce se alcalinizează cu KOH sau NaOH 20% se adaugă 2—5 picături de $CuSO_4$ 1%. Lichidul se colorează în violet. Un exces de sulfat de cupru acoperă culoarea caracteristică. În prezența sărurilor de amoniu, reacția nu are loc.

b) Reacția biuretului poate să fie executată și cu un precipitat de proteină, precum și cu o granulă de gluten. Tratîndu-le pe acestea la cald cu 4—5 ml de apă alcalinizată cu KOH 20%, se produce o dizolvare a proteinelor. Introducînd după răcirea probelor cîteva picături de $CuSO_4$ 1%, se obține culoarea violetă caracteristică.

c) În cazul boabelor de fasole și de mazăre, acestea se îmbibă mai întîi în apă 24 de ore. Se fac apoi secțiuni mai groase din ele, se așază pe o sticlă de ceas și se tratează cu $CuSO_4$ 5% sau cu soluția Fehling I, (reactivul 63 *a*). Se lasă timp de circa ½—1 oră pentru îmbibarea lor cu soluția și pe urmă secțiunile spălate cu apă se tratează cu KOH sau NaOH 20%. Secțiunile se colorează în violet. În cazul cotiledoanelor de *Phaseolus multiflorus*, reacția este foarte pronunțată.

2) *Reacția xantoproteică* (reacția grupării benzenice) se datorește aminoacizilor care conțin un nucleu aromatic în molecula lor (fenilalanină, tirozină, triptofan). Aceștia se găsesc aproape în toate proteinele. Sub acțiunea acidului azotic concentrat se formează nitroderivații nucleelor aromatice din aminoacizii respectivi, care sînt de culoare galbenă (*xanthos* = galben).

O soluție sau un precipitat de proteine sau boabe de fasole îmbibate și mărunțite se încălzește cu 2—3 ml HNO_3 concentrat. Apare o colorație galbenă. Soluția se neutralizează după răcire cu NaOH 20% sau NH_4OH concentrat, cînd culoarea galbenă trece în portocalie. Preparatele uscate de proteine sînt mai indicate pentru executarea reacției.

3) *Reacția sulfurii de plumb* este datorită aminoacizilor cu sulf (cistină, metionină). Sulful, care este fixat slab în aceste molecule, poate fi eliberat ușor sub formă de hidrogen sulfurat, care cu o sare de plumb dă un precipitat brun sau negru de sulfură de plumb (PbS).

La 1 ml de acetat de plumb 0,5% se adaugă picătură cu picătură NaOH 20% pînă ce precipitatul alb format de $Pb(OH)_2$ se redizolvă în excesul de bază. Apoi se adaugă boabe de fasole îmbibate și mărunțite și se fierbe amestecul pînă cînd apare precipitatul brun sau negru de sulfură de plumb.

Scanned with OKEN Scanner

4) *Reacţia Millon* (reacţia tirozinei). Fenolii formează cu ionii de mercur un precipitat roşu. Fiindcă gruparea fenolică intră în compoziţia moleculei de tirozină, reacţia Millon este caracteristică pentru toate proteinele care conţin tirozină în molecula lor.

La 2—4 ml de soluţie de proteină sau la seminţe de lupin îmbibate şi mărunţite se adaugă 0,5—1 ml de reactiv Millon (reactivul 54) şi se încălzeşte uşor pînă la 50—60°C. Precipitatul alb depus iniţial se colorează în roşu-cărămiziu. Un exces de reactiv trebuie evitat, deoarece acidul azotic din el poate să dea naştere la o coloraţie galbenă cu proteinele (reacţia xantoproteică), care ar masca culoarea reacţiei Millon.

Gelatina pură nu dă această reacţie, pentru că nu conţine tirozină.

Alcalinitatea puternică a soluţiei sau prezenţa sărurilor anorganice în concentraţii mari împiedică desfăşurarea reacţiei.

Experienţa nr. 174

SEPARAREA AMINOACIZILOR PRIN METODA CROMATOGRAFICĂ PE HÎRTIE

Aminoacizii, componenţii proteinelor, se obţin prin hidroliza acidă sau enzimatică a proteinelor.

Se introduce într-o fiolă (sau eprubetă efilată la mijloc în flacăra Bunsen) un vîrf de cuţit de gluten uscat şi pulverizat. Se adaugă 1 ml HCl 25% (reactivul 4 *d*), se închide fiola la flacăra Bunsen şi se ţine timp de 12 ore în etuvă electrică la 110°C pentru hidroliză. Apoi conţinutul fiolei se usucă pe baia de apă în vid (cu trompă de apă), şi pentru îndepărtarea urmelor de HCl se trece un curent de aer timp de o oră. Reziduul se reia cu 2 ml de apă şi la nevoie se neutralizează cu NaOH 10% (în prezenţa hîrtiei de turnesol).

Hidrolizatul astfel obţinut se cromatografiază bidimensional pe hîrtie tăiată pătrat (Whatman nr. 1 sau Schleicher—Schüll nr. 2043 *b*). Cantitatea de aminoacizi pusă pe hîrtie nu trebuie să fie mai mare de 20—60 micrograme. Se foloseşte ca sistem de dizolvanţi *n*-butanol-acid acetic-apă 4 : 1 : 5 (faza organică), proaspăt preparat ca la cromatografierea glucidelor (experienţa nr. 158). După developare şi uscare, hîrtia se întoarce cu 90° şi se developează cu al doilea dizolvant: soluţie apoasă de fenol 80%. După uscarea cromatogramei se face detectarea petelor prin pulverizare cu o soluţie de *ninhidrină* 0,2% în alcool butilic (sau în alcool etilic). Uscarea se face timp de 30—60 minute la maximum 60°C. Aminoacizii se colorează în violet, roşu-violet, albastru sau cenuşiu. Numai prolina apare galbenă. Cromatograma se decolorează cu timpul. De aceea, este bine să se facă stabilizarea coloraţiei prin pulverizare cu următorul amestec: 1 ml soluţie apoasă saturată de Cu $(NO_3)_2$ şi 0,2 ml HNO_3 10% (reactivul 3 *a*), aduse la 100 ml cu alcool etilic. Cromatograma se introduce imediat în vapori de amoniac.

Mai nou se întrebuinţează pentru detectarea aminoacizilor *isatina*, care îi colorează mai diferenţiat. Cromatograma se imersează într-o

soluție 0,2% de isatină în acetonă cu 4% acid acetic. Se încălzește timp de 10 minute la 100—110°C.

Identificarea aminoacizilor se face pe baza valorilor de R_f și pe baza reacțiilor de culoare obținute prin detectare (tabelul nr. 12).

Tabelul 12

Identificarea aminoacizilor pe baza valorilor R_f și a reacțiilor de culoare

Aminoacizi	R_f în butanol-acid acetic-apă	Reacțiile de culoare cu	
		ninhidrină	isatină
alanină	0,38	violet	albastru-închis
acid α-amino-butiric	0,45	violet	—
arginină	0,20	violet	roșu-violet→albastru
acid asparagic	0,24	albastru-violet	albastru-închis
cisteină	0,07	violet	roșu-violet
cistină	0,08	violet	brun
acid glutamic	0,30	violet	verde→violet
glicină (glicocol)	0,26	roșu-violet	roz-brun
histidină	0,20	brun-violet	verde→ violet
leucină	0,73	violet	violet (albastru)
fenil-alanină	0,68	albastru-violet	albastru-verde
prolină	0,43	galben (brun)	albastru
triptofan	0,50	violet	portocaliu-brun
tirozină	0,45	brun-violet	c. nușiu-albastru (albastru-verde)

(Valorile *Rf* sînt din Brauner-Bukatsch, iar reacțiile de culoare din Hais și Macekp. 416)

Experiența nr. 175

DESCOMPUNEREA ENZIMATICĂ A PROTEINELOR

Descompunerea și sinteza proteinelor în organismele vii este realizată de un grup de enzime numite *proteaze*. Proteazele organismului vegetal se comportă analog tripsinei. Ele apar în special în semințele germinate, asigurînd hidroliza proteinelor de rezervă din acestea. Au fost identificate proteaze foarte active în semințele de orz, cînepă, lupin, ricin, mac și sfeclă. Celulele de drojdie și de bacterii sînt, de asemenea, bogate în enzime proteolitice.

În 2 eprubete se toarnă cîțiva mililitri dintr-o soluție de gelatină 5%. Eprubetele se așază în poziție înclinată într-o baie de apă rece pînă ce gelatina din ele devine solidă. Într-una din eprubete se așază pe suprafața gelatinei o granulă de drojdie activă umezită cu o picătură de toluen (antiseptic). În cealaltă eprubetă se așază o granulă de drojdie inactivată în baie de apă fierbinte, care este umezită, de asemenea, cu o picătură de toluen. Eprubetele închise se lasă să stea la temperatura camerei. După 5—6 zile, gelatina supusă influenței proteazelor active se lichefiază, iar gelatina din cealaltă eprubetă rămîne solidă.

Însămînțarea gelatinei cu spori de *Aspergillus* duce la același rezultat.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 176

DETERMINAREA AZOTULUI TOTAL DUPĂ KJELDAHL

Azotul total reprezintă suma azotului organic şi anorganic din materialul examinat. Cea mai mare parte (circa 85—90%) a azotului total din materialul vegetal rezultă din proteine.

Metoda Kjeldahl se bazează pe mineralizarea cantitativă a substanţelor organice din materialul vegetal. Sub acţiunea acidului sulfuric concentrat, fierbinte, carbonul din materia organică este oxidat la acid carbonic, hidrogenul la apă, iar azotul este transformat în amoniac. Acesta din urmă formează cu acidul sulfuric prezent sulfat de amoniu. Prin tratarea sulfatului de amoniu cu o soluţie concentrată de hidroxid de sodiu, amoniacul se pune în libertate şi se distilă, captîndu-se într-un volum cunoscut de acid sulfuric. După captarea cantitativă a amoniacului, excesul de acid sulfuric se titrează cu hidroxid de sodiu 0,1 *n*. Cantitatea de amoniac captat (respectiv de azot echivalent) se calculează după volumul acidului neutralizat de amoniac.

Dezagregarea rapidă a substanţelor organice este asigurată de prezenţa unor catalizatori (săruri de mercur, de cupru sau de selen) şi a unor substanţe care ridică temperatura de fierbere (de exemplu K_2SO_4). În felul acesta, durata mineralizării se reduce de la cîteva zile la 1—3 ore.

La executarea determinării se cîntăresc 0,2—2 g din materialul vegetal uscat la aer (seminţe, fîn), respectiv 4—6 g dintr-un material bogat în apă (tuberculi, frunze, rădăcini). Conţinutul în azot al probei cîntărite trebuie să fie de 20—40 mg. Această probă se introduce într-un balon Kjeldahl de 250—500 ml.

La cîntărirea probei se recomandă următorul mod de procedare: materialul mărunţit se cîntăreşte mai întîi cu aproximaţie la o balanţă tehnică, pe urmă, introdus într-o fiolă de cîntărire, se va cîntări precis la balanţa analitică. Proba se introduce cu multă atenţie în balonul Kjeldahl, în aşa fel încît cantitatea rămasă pe gîtul balonului să fie cît mai redusă. Pe urmă, fiola se cîntăreşte din nou. Diferenţa celor două cîntăriri dă greutatea precisă a materialului folosit la analiză *(n)*. Peste materialul introdus în balonul Kjeldahl se toarnă dintr-un cilindru gradat 10—20 ml de acid sulfuric concentrat (socotind circa 10—15 ml acid sulfuric la fiecare gram de material uscat la aer). Se mai introduc în balon 0,1 g de selen sau o picătură de mercur sau 0,5 g $CuSO_4$, care vor servi drept catalizator. Pentru evitarea formării unei spume abundente, adăugăm o granulă de parafină pură. Balonul aşezat în baie de nisip pe stativul de mineralizare (fig. 121) se încălzeşte cu flacără mică pînă la dizolvarea materialului şi încetarea spumegării. (Mineralizarea se face sub

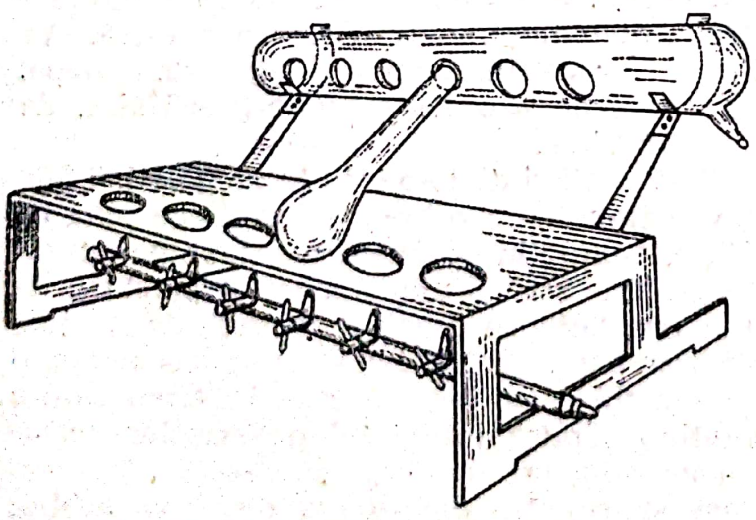


Fig. 121. Stativul Kjeldahl (după Biro).

nișă!) Apoi se introduc 5—10 g de K_2SO_4 sau Na_2SO_4 și, astupînd gura balonului cu o pîlnie sau pară de sticlă, se încălzește cu flacără puternică pînă la decolorarea, respectiv înverzirea ($CuSO_4$) amestecului. După decolorarea amestecului, fapt ce arată că a avut loc mineralizarea completă, se mai încălzește 15 minute la flacără mică. Dacă există pete negre sau picături brune pe gîtul balonului, ele trebuie spălate după răcirea balonului; pe urmă se continuă încălzirea pînă la decolorarea amestecului.

După răcire, conținutul balonului se va dilua cu circa 50 ml de apă distilată și se va trece cantitativ într-un balon de distilare de 750—800 ml (volumul total al soluției să nu treacă peste 250—300 ml). Dacă balonul Kjeldahl are o capacitate destul de mare (500—800 ml), distilarea se poate executa direct din el. Un balon Erlenmeyer de 300—500 ml se folosește drept colector. În acesta se introduc din biuretă 25—50 ml de acid sulfuric 0,1 *n* (reactivul 8 *b*) și 2—3 picături de indicator roșu de metil sau metiloranj 0,1%. Balonul cu acid sulfuric se așază în așa fel, încît capătul tubului prin care se colectează distilatul să fie introdus în soluția de acid sulfuric (fig. 122). Se mai adaugă în balonul de distilare un grăunte de piatră ponce sau de porțelan (în cazul folosirii mercurului drept catalizator — și puțină pulbere de zinc pentru descompunerea complexului de mercur) și se toarnă circa 40—80 ml de soluție de KOH sau NaOH 33% (în general, de 4 ori mai mult decît cantitatea acidului sulfuric folosit la mineralizare). Încălzind apoi balonul de distilare pînă la fierbere, se execută distilarea amoniacului pînă cînd o picătură de distilat, luată de la capătul tubului, nu mai înălbăstrește hîrtia roșie de turnesol. Distilarea amoniacului este terminată în general cînd volumul lichidului din balonul de distilare scade la jumătate. După ce se scoate din acidul sulfuric, capătul tubului se spală cu puțină apă distilată în vasul de colectare.

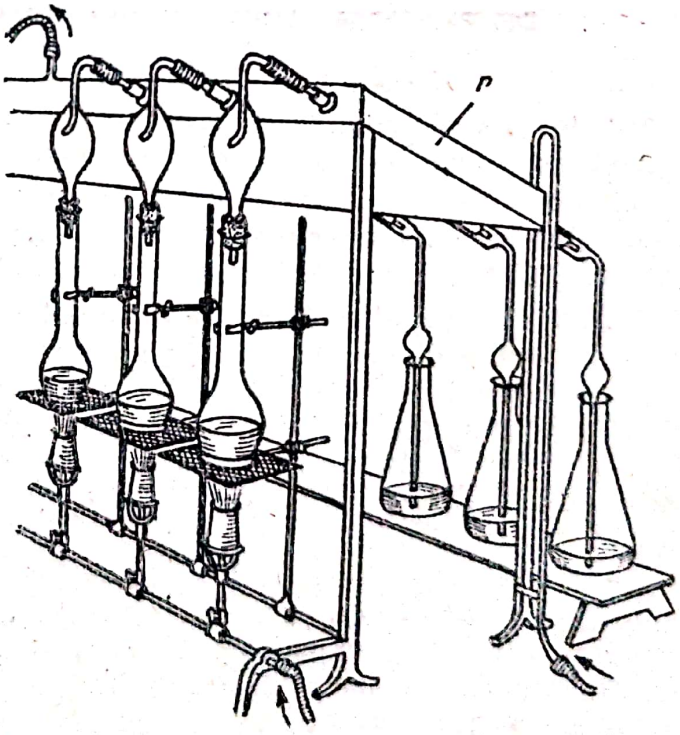


Fig. 122. Aparatul de distilare Kjeldahl: *r* — refrigerent.

Conținutul vasului de colectare se titrează cu o soluție de NaOH 0,1 *n* (reactivul 42). Volumul soluției de NaOH 0,1 *n* folosit la titrare se scade din volumul acidului sulfuric 0,1 *n* pregătit în vasul de colectare. Diferența în mililitri de acid sulfuric este echivalentă cu

cantitatea de amoniac fixat. La 1 ml de acid sulfuric 0,1 *n* corespund 0,0014 g de azot.

$$\text{Azotul total, în } \% = \frac{(a \cdot f_1 - b \cdot f_2) \cdot 0{,}0014 \cdot 100}{n},$$

unde:

a este volumul acidului sulfuric 0,1 *n* din vasul de colectare, în ml;
f_1 — factorul acidului sulfuric 0,1 *n*;
b — volumul hidroxidului de sodiu 0,1 *n* folosit la titrare, în ml;
f_2 — factorul hidroxidului de sodiu 0,1 *n*;
n — greutatea probei cîntărite pentru analiză, în g.

Prin înmulţirea azotului total cu 6,25 se obţine „proteina brută", în procente, deoarece se admite în mod convenţional că valoarea medie a conţinutului în azot al substanţelor proteice din plante este 16%; unui gram de azot îi corespund deci $\frac{100}{16} = 6{,}25$ g de proteine.

Pentru microanalize de azot total se foloseşte aparatul Parnas—Wagner.

Experienţa nr. 177

DETERMINAREA GLUTENULUI DIN FĂINĂ

Se cîntăresc 22 g de făină, care se frămîntă într-un mojar cu 11 ml de apă de conductă timp de 10 minute. Se cîntăresc 30 g din aluatul astfel obţinut şi se lasă în linişte timp de 30 minute sub un clopot de sticlă căptuşit cu hîrtie umedă. Apoi aluatul se spală cu un şuvoi slab de apă de conductă cu temperatura de 20°C, pe deasupra unei site, circa 15 minute, pentru îndepărtarea amidonului din el.

Glutenul obţinut se frămîntă între palme pînă ce, pierzîndu-şi excesul de apă, devine cleios. Materialul se cîntăreşte repede la o balanţă tehnică cu o precizie de două zecimale. Înmulţind greutatea găsită cu 5, se obţine valoarea glutenului umed în procente (se înmulţeşte cu 5, deoarece din cantitatea de făină luată în experienţă, 22 g, se consideră că se pierd prin spălare 2 g şi în acest caz valoarea procentuală va fi de $20 \times 5 = 100$).

Glutenul umed se introduce în apă şi se fierbe pînă ce se ridică la suprafaţă. După 30 de secunde, socotite din acest moment, materialul se scoate din apă şi se usucă puţin între straturi de pînză. Se taie mărunt, se cîntăreşte şi se usucă în etuvă la 105°C pînă la greutatea constantă (circa 4—5 ore). Înmulţind greutatea materialului uscat cu 5, se obţine valoarea *glutenului uscat*, în procente. Valoarea glutenului uscat reprezintă în general o treime din valoarea glutenului umed.

Scanned with OKEN Scanner

3. LIPIDE (GLICERIDE)

Experiența nr. 178

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A LIPIDELOR

1) Lipidele lasă pe hîrtia albă de scris o *pată transparentă*. Semințele de ricin, de floarea-soarelui, de nuc, de alun sau de dovleac, presate pe o hîrtie albă de scris, dau naștere la o pată persistentă transparentă, care denotă prezența grăsămilor.

2) *Solubilitatea*. Prin agitarea puternică a uleiurilor vegetale cu apă, se obține o emulsie lăptoasă foarte instabilă. Uleiurile acestea se dizolvă în schimb în eter etilic, eter de petrol, cloroform, benzen, tetraclorură de carbon. Alcoolul etilic dizolvă numai uleiul de ricin.

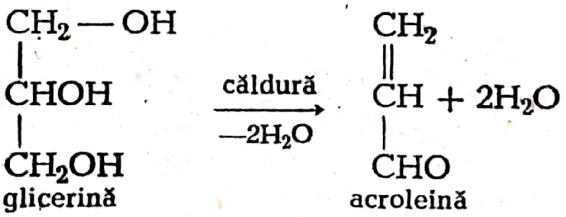
Se va încerca dizolvarea uleiului de floarea-soarelui și de ricin cu solvenții menționați.

3) Colorarea uleiurilor și grăsimilor se realizează cu ajutorul coloranților liposolubili, ca: Sudan III, scarlat R și alcanina.

a) Aplicînd o picătură de soluție alcoolică 0,5% de Sudan III pe o secțiune făcută din sămînța de ricin, dovleac sau floarea-soarelui, se obține o coloratie roșie-portocalie.

b) Se amestecă într-o eprubetă 1—2 ml de ulei vegetal cu cîteva picături de soluție Sudan III și se agită puternic. Uleiul se colorează intens în portocaliu.

4) *Reacția acroleinei*. Sub acțiunea căldurii, glicerina pierde 2 molecule de apă și se transformă în acroleină. Aceasta are un miros pătrunzător, înțepător. Reacția este caracteristică nu numai pentru glicerina liberă, ci și pentru cea fixată în molecula gliceridelor.



Acroleina este o aldehidă nesaturată cu proprietăți reducătoare puternice. Reduce reactivul Fehling și soluția amoniacală de azotat de argint.

Materialul de examinat (semințe presate de ricin sau de floarea-soarelui, respectiv 1—2 ml de ulei vegetal) se amestecă cu o cantitate egală de reactiv deshidratant (acid boric sau $KHSO_4$ pulverizat) și se încălzește ușor la flacără mică pînă la formarea unui fum alb. Se simte mirosul caracteristic al acroleinei. O bucată de hîrtie de filtru îmbibată cu soluție proaspătă de azotat de argint amoniacal (reactivul 14) și ținută la gura eprubetei se colorează în brun de către argintul redus.

5) *Saponificarea lipidelor*. La încălzirea uleiurilor (respectiv grăsimilor) cu alcalii puternice, gliceridele constitutive se descompun, formîndu-se glicerină și sărurile acizilor grași, numite *săpunuri* (R—COONa).

Cîţiva mililitri de ulei de floarea-soarelui sau de seminţe presate de ricin se încălzesc cu 6—7 ml de soluţie de NaOH 10% într-o capsulă de porţelan timp de 20—30 minute, amestecînd continuu cu o baghetă pentru evitarea şocurilor. Luînd o probă într-o eprubetă cu apă, se obţine o spumă după agitarea puternică a soluţiei. La restul lichidului din capsulă se adaugă puţină apă şi sare de bucătărie. Se formează un strat de săpun pe suprafaţa lichidului, deoarece solubilitatea săpunurilor în soluţii de săruri este scăzută.

6) Punerea în evidenţă a *acizilor graşi nesaturaţi*. Se dizolvă cîteva picături de ulei în cloroform, apoi se adaugă picătură cu picătură o soluţie de iod cu clorură mercurică (reactivul 43) şi se agită puternic. (Clorura mercurică din reactiv serveşte drept catalizator). În prezenţa acizilor graşi nesaturaţi, soluţia se decolorează, iodul fiind adiţionat la dublele legături. Gradul de nesaturaţie al unui ulei se poate exprima prin indicele de iod sau brom.

7) Punerea în evidenţă a gradului de rîncezire a unei grăsimi cu *reacţia lui Kreiss*. În urma rîncezirii, grăsimile primesc un miros şi gust neplăcut, iar reacţia lor devine acidă. Cu ajutorul reacţiei Kreiss se pot pune în evidenţă aldehidele şi cetozele apărute ca produşi ai procesului de rîncezire. Într-o eprubetă se agită un minut 2 ml de ulei (sau untură topită) cu 2 ml de HCl concentrat, apoi se adaugă 2 ml de reactiv Bellier (rezorcină 0,6% în benzen). Se agită puternic. După gradul de rîncezire, apare o coloraţie de la roşu la violet în stratul apos.

Experienţa nr. 179

DETERMINAREA CANTITATIVĂ A GRĂSIMILOR CU METODA EXTRACŢIEI (SOXHLET)

Grăsimile naturale conţin în cantităţi reduse (0,5—3%) substanţe însoţitoare, care se dizolvă de asemenea în solvenţi organici. Dintre acestea fac parte diferite ceruri, fosfatide, răşini, uleiuri eterice şi cîţiva pigmenţi vegetali. De aceea, grăsimea obţinută prin extracţie poartă denumirea de „grăsime brută". Pentru scopuri practice este suficientă determinarea grăsimii brute, deoarece determinarea grăsimii pure este foarte greoaie.

Metoda extracţiei se bazează pe următorul principiu: grăsimile din materialul vegetal sînt extrase cu ajutorul unui solvent organic, eter de petrol sau eter etilic. Solventul se îndepărtează apoi prin evaporare (distilare) şi se stabileşte greutatea reziduului gras obţinut. Înainte de a trece la extracţie trebuie îndepărtată apa din materialul examinat, fiindcă aceasta ar dizolva substanţele solubile în apă (zaharurile şi sărurile minerale) şi rezultatul obţinut ar fi mai mare ca cel real.

Materialul examinat se mărunţeşte de obicei într-un mojar. Pentru a evita pierderile eventuale în grăsime prin aderarea acesteia pe pereţii mojarului, se recomandă saturarea mojarului cu grăsime prin frecarea

Scanned with OKEN Scanner

în mojar a unei cantități oarecare din materialul respectiv, care pe urmă se aruncă.

Materialul fin mărunțit se usucă în etuvă la 100—105°C timp de 2—3 ore.

În funcție de conținutul materialului în grăsimi, se cîntăresc 2—10 g *(n)* și se introduc într-un cartuș Soxhlet din hîrtie poroasă. Dacă nu dispunem de cartușe se poate confecționa o pungă de circa 10 cm lungime din hîrtie de filtru degresată. Se cîntărește la balanța analitică balonul *(a)* în prealabil uscat la greutate constantă într-o etuvă la 80—90°C (fig. 123). Se așază cartușul sau punga de extracție *(f)* în corpul extractor al aparatului *(b)*. Se astupă cartușul cu puțină vată degresată. Se montează extractorul în stativ împreună cu refrigerentul *(c)*. Solventul se toarnă prin partea superioară printr-o pîlnie. Se toarnă atîta eter de petrol sau eter etilic pînă cînd prin sifonare (prin sifonul *d)* el trece în balonul de fierbere *(a)*, apoi încă vreo 40—50 ml în exces, deoarece trebuie să se evite ca balonul să rămînă fără solvent înainte de a se produce o nouă sifonare. După ce apa circulă în refrigerent, se încălzește balonul de preferință pe baie electrică *(g)* și în nici un caz direct pe flacăra becului de gaz, deoarece solvenții organici sînt extrem de inflamabili. Încălzirea trebuie reglată în așa fel ca să asigure o fierbere uniformă a lichidului.

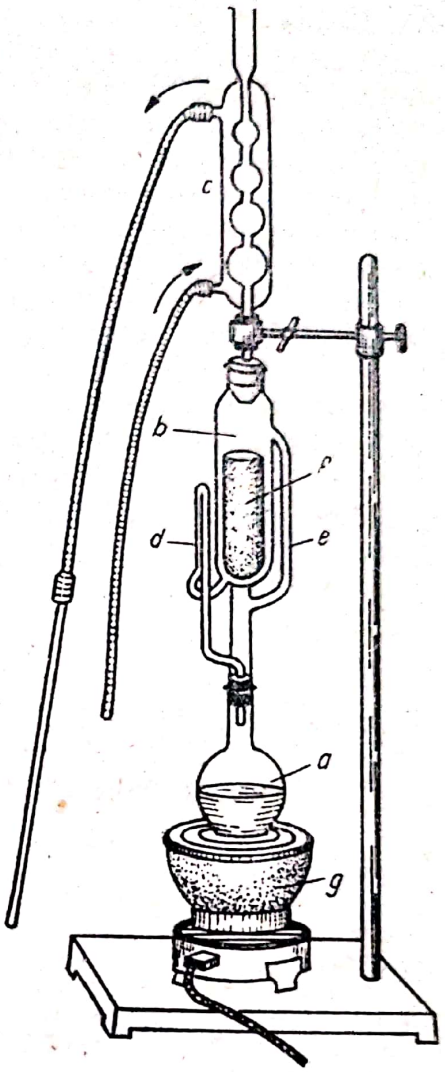


Fig. 123. Aparatul Soxhlet :
a — balonul de fierbere; *b* — corpul extractor; *c* — refrigerentul; *d* — sifonul; *e* — tubul lateral; *f* — cartușul de extracție; *g* — baie de apă electrică.

Vaporii solventului ajung prin tubul lateral *(e)* în corpul extractor și în refrigerent, în care se condensează și cad în cartușul de extracție, unde dizolvă grăsimea și se adună în partea inferioară a corpului extractor. Cînd nivelul lichidului ajunge la înălțimea egală cu a sifonului lateral *(d)*, are loc o primă sifonare în balonul de fierbere *(a)*. În acest fel au loc extracții repetate cu aceeași cantitate de solvent. Dacă în cursul unei ore se fac 10—20 de sifonări, extracția se termină în 6—12 ore, în funcție de conținutul materialului în grăsime. În cazul extractelor colorate, extracția se termină atunci cînd lichidul care sifonează, a devenit incolor. Dacă materialul extras este incolor, se ia o probă pe o sticlă de ceas din lichidul care sifonează și se observă dacă se evaporă fără reziduu.

După terminarea extracției se oprește încălzirea aparatului, se lasă să se răcească cîteva minute, se desprinde apoi refrigerentul de restul aparatului, se scoate cu un clește cartușul cu materialul degresat, se

în mojar a unei cantități oarecare din materialul respectiv, care pe urmă se aruncă.

Materialul fin mărunțit se usucă în etuvă la 100—105°C timp de 2—3 ore.

În funcție de conținutul materialului în grăsimi, se cîntăresc 2—10 g *(n)* și se introduc într-un cartuș Soxhlet din hîrtie poroasă. Dacă nu dispunem de cartușe se poate confecționa o pungă de circa 10 cm lungime din hîrtie de filtru degresată. Se cîntărește la balanța analitică balonul *(a)* în prealabil uscat la greutate constantă într-o etuvă la 80—90°C (fig. 123). Se așază cartușul sau punga de extracție *(f)* în corpul extractor al aparatului *(b)*. Se astupă cartușul cu puțină vată degresată. Se montează extractorul în stativ împreună cu refrigerentul *(c)*. Solventul se toarnă prin partea superioară printr-o pîlnie. Se toarnă atîta eter de petrol sau eter etilic pînă cînd prin sifonare (prin sifonul *d)* el trece în balonul de fierbere *(a)*, apoi încă vreo 40—50 ml în exces, deoarece trebuie să se evite ca balonul să rămînă fără solvent înainte de a se produce o nouă sifonare. După ce apa circulă în refrigerent, se încălzește balonul de preferință pe baie electrică *(g)* și în nici un caz direct pe flacăra becului de gaz, deoarece solvenții organici sînt extrem de inflamabili. Încălzirea trebuie reglată în așa fel ca să asigure o fierbere uniformă a lichidului.

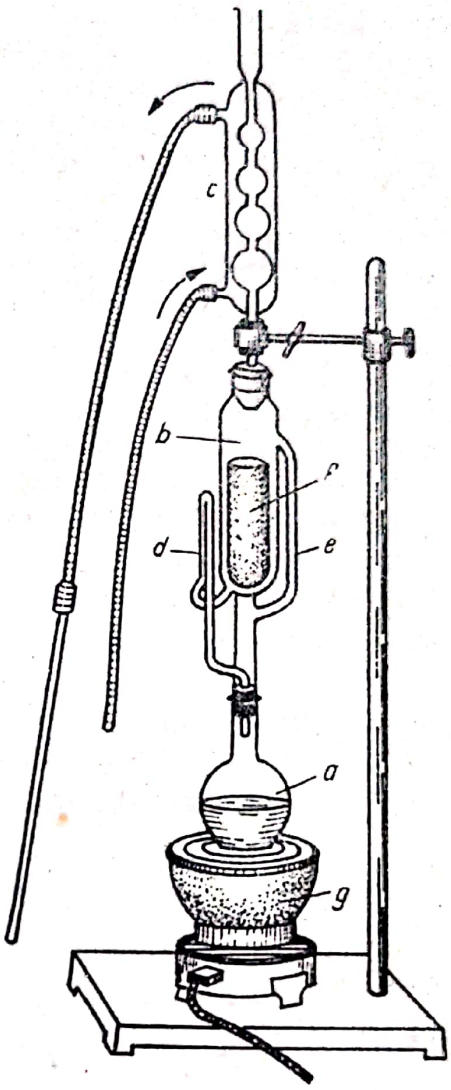


Fig. 123. Aparatul Soxhlet :
a — balonul de fierbere; *b* — corpul extractor; *c* — refrigerentul; *d* — sifonul; *e* — tubul lateral; *f* — cartușul de extracție; *g* — baie de apă electrică.

Vaporii solventului ajung prin tubul lateral *(e)* în corpul extractor și în refrigerent, în care se condensează și cad în cartușul de extracție, unde dizolvă grăsimea și se adună în partea inferioară a corpului extractor. Cînd nivelul lichidului ajunge la înălțimea egală cu a sifonului lateral *(d)*, are loc o primă sifonare în balonul de fierbere *(a)*. În acest fel au loc extracții repetate cu aceeași cantitate de solvent. Dacă în cursul unei ore se fac 10—20 de sifonări, extracția se termină în 6—12 ore, în funcție de conținutul materialului în grăsime. În cazul extractelor colorate, extracția se termină atunci cînd lichidul care sifonează, a devenit incolor. Dacă materialul extras este incolor, se ia o probă pe o sticlă de ceas din lichidul care sifonează și se observă dacă se evaporă fără reziduu.

După terminarea extracției se oprește încălzirea aparatului, se lasă să se răcească cîteva minute, se desprinde apoi refrigerentul de restul aparatului, se scoate cu un clește cartușul cu materialul degresat, se

montează la loc aparatul și se reîncepe încălzirea și distilarea, pînă cînd în corpul extractor s-a adunat o cantitate de eter ceva mai mică decît înălțimea sifonului. Se oprește în acest moment din nou încălzirea, se desprinde corpul extractor de balon și de refrigerent și se trece, prin sifonare, eterul de petrol într-o sticlă. Se reîncepe operația de distilare în același mod pînă cînd tot eterul este îndepărtat din balon. Balonul cu extractul gras se ține cîtva timp culcat pe o baie de apă caldă, suflînd în el din cînd în cînd aer cu o țeavă de sticlă, pentru îndepărtarea vaporilor de eter rămași încă în balon. La urmă se usucă în etuvă la 80°C pînă la greutate constantă (circa 2 ore). După răcirea balonului în exsicator se cîntărește din nou, pe aceeași balanță. Diferența între greutatea balonului cu grăsime și greutatea balonului gol ne dă materia grasă extrasă *(gr)* din *n* grame de material vegetal și se raportează apoi la 100 g de material analizat.

Grăsimea brută în procente (calculată la substanța uscată) se obține din formula:

$$\frac{gr \cdot 100}{n}$$

Experiența nr. 180

DESCOMPUNEREA ENZIMATICĂ A GRĂSIMILOR

Lipaza catalizează hidroliza gliceridelor în glicerină și acizi grași. Bogate sînt în lipaze în primul rînd semințele oleaginoase (ricin, mac, cînepă, in, dovleac), în special în timpul germinării.

Temperatura optimă a lipazei este între 37 și 40°C, iar *p*H-ul ei optim este 5 în cazul lipazei din ricin și 7,5 în cazul lipazei din floarea-soarelui.

Caracteristica lipazei este insolubilitatea ei în apă. Se poate prepăti un extract de lipază cu glicerină pură sau cu ajutorul unui amestec din 9 părți de glicerină pură și 1 parte de soluție de Na_2CO_3 1% și, în sfîrșit, cu o soluție cloralhidrat 1%.

Obținerea extractului de lipază: 30 g de semințe, încolțite (de 1—3 zile) și cojite, de ricin sau de floarea-soarelui se mărunțesc într-un mojar pînă se obține o pastă omogenă fină; pe urmă se amestecă cu 60 ml de soluție de cloralhidrat 1% (cloralhidratul se păstrează în sticlă brună, pentru că la lumină se descompune în substanțe otrăvitoare).

Pentru identificarea lipazei, reacția cea mai simplă este *reacția lui Heidenheim*, care se bazează pe reacția acidă a acizilor grași ce se eliberează în urma acțiunii lipazei. Se iau cîte 3 ml de extract de lipază în 2 eprubete. Una dintre eprubete se încălzește pînă la fierbere pentru inactivarea enzimei. Se adaugă cîte 2 ml de ulei de floarea-soarelui și 3 picături de fenolftaleină (reactivul 33) în ambele eprubete și se titrează conținutul lor cu KOH 0,1 *n* (reactivul 39) pînă la virajul în slab roz al indicatorului. După adăugarea a 1—2 picături de toluen (antiseptic), eprubetele se așază în termostat la 40°C. După cîteva ore se poate observa rezultatul acțiunii lipazei în eprubeta cu lipaza activă, unde dispare coloratia roz (reacția acidă a acizilor grași eliberați), pe cînd în proba inactivată coloratia rămîne neschimbată.

Scanned with OKEN Scanner

Determinarea cantitativă a activității lipazei se bazează pe titrarea acizilor grași puși în libertate sub acțiunea enzimei. Cantitatea de KOH 0,1 *n* întrebuințată la titrare indică direct gradul de activitate a lipazei. Cele două eprubete folosite în experiență se țin 3 zile în termostat la 40°C și pe urmă se titrează conținutul lor cu KOH 0,1 *n*.

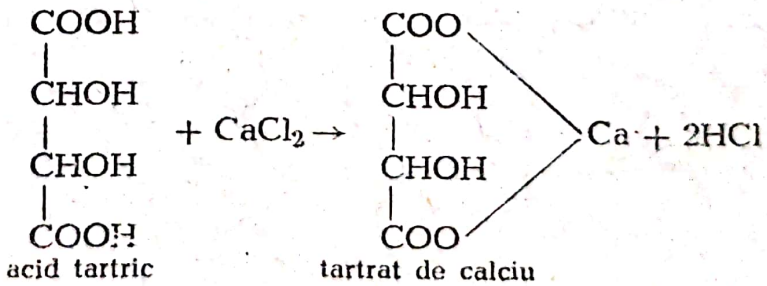
Experiența nr. 181

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A ACIZILOR ORGANICI

Cei mai frecvenți acizi din regnul vegetal sînt acidul oxalic, acidul citric, acidul tartric și acidul malic. Aceștia se găsesc în parte sub formă liberă, în parte sub formă de săruri.

1) *Acidul tartric* se găsește în cea mai mare cantitate în struguri, sub forma tartratului acid de potasiu (piatră de vin). El se mai găsește în cantitate considerabilă și în frunzele de *Chelidonium majus* și de *Rumex patientia*. Extracția lui din materialul vegetal se face în felul următor: materialul mărunțit se încălzește cu apă distilată timp de 5—10 minute, pe urmă se filtrează sau se decantează. În soluția transparentă se identifică prezența acidului tartric cu următoarele reacții (se recomandă executarea acestor reacții și cu o soluție de acid tartric pur 5%):

a) În prezența acetatului de sodiu 10%, acidul tartric se precipită sub forma unui precipitat alb cristalin, sub acțiunea soluției de $CaCl_2$ 10%. Frecarea pereților eprubetei cu o baghetă favorizează precipitarea. Cristalele rombice ale tartratului de calciu nu se dizolvă în apă rece (spre deosebire de citratul de calciu); se dizolvă în schimb la cald în acid acetic diluat (spre deosebire de oxalatul de calciu, care nu se dizolvă în acid acetic):



acid tartric — tartrat de calciu

$$HCl + CH_3 - COONa \rightarrow CH_3 - COOH + NaCl$$

Întrucît tartratul de calciu se dizolvă în HCl, care este un produs secundar al reacției, este necesar ca reacția să fie făcută în prezența acetatului de sodiu, pentru ca HCl să fie înlăturat sub formă de NaCl. Acidul acetic rezultat din reacție nu provoacă dizolvarea precipitatului la rece.

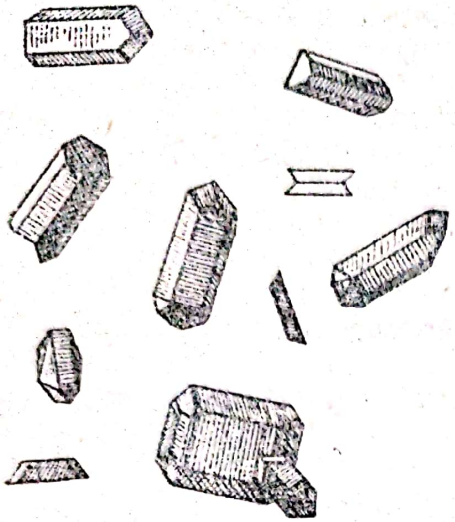
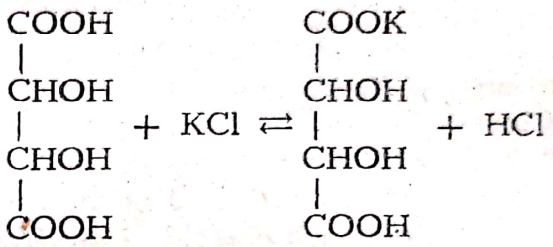


Fig. 124. Cristale de tartrat acid de potasiu, × 250 (după Brugovitzky).

b) Acidul tartric precipită şi cu clorura de potasiu 5%, în prezenţa acetatului de sodiu 10%, sub formă de cristale albe de tartrat acid de potasiu (fig. 124), spre deosebire de acidul oxalic, care nu dă precipitat cu KCl. Frecarea pereţilor eprubetei cu o baghetă ajută precipitarea:



$$HCl + CH_3—COONa \rightarrow CH_3—COOH + NaCl$$

2) *Acidul oxalic.* Sărurile acidului oxalic sînt foarte răspîndite în regnul vegetal. Oxalatul de calciu şi oxalatul de magneziu se găsesc sub formă de cristale (în peţiolul de *Begonia*, în foiţa externă a bulbului de *Allium cepa*, fig. 125), iar oxalatul de sodiu şi cel de potasiu se găsesc dizolvaţi în sucul celular. Acidul oxalic liber, care este o substanţă otrăvitoare, nu s-a putut pune în evidenţă.

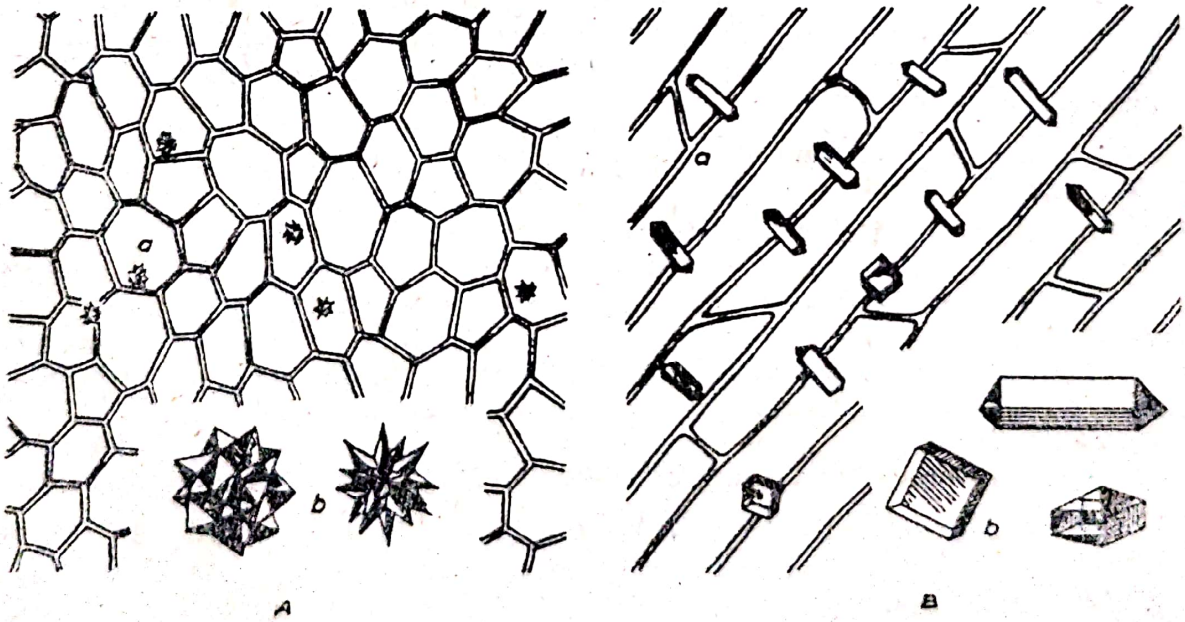
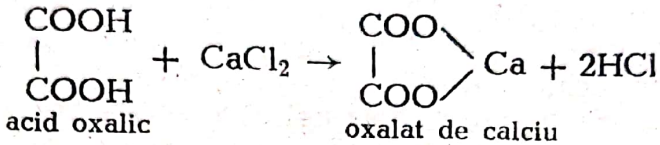


Fig. 125. Cristale de oxalat de calciu:
A — în peţiolul de *Begonia*: *a* — ×70; *b* — ×315; *B* — în foiţa externă a bulbului de *Allium cepa*, *a* — ×175; *b* — × 315 (după Brugovitzky).

Oxalații pot fi puși în evidență din pețiolul sau din frunza de *Begonia*. Materialul de examinat se mărunțește și se încălzește cu apă distilată timp de 5—10 minute, pe urmă se decantează sau se filtrează și extractul se folosește la executarea următoarelor reacții:

a) Acidul oxalic liber, precum și sărurile lui cu metalele alcaline formează cu clorura de calciu 10%, imediat, un precipitat alb, dens, de oxalat de calciu. Acesta nu se dizolvă în acid acetic (spre deosebire de tartratul de calciu), ci numai în acid clorhidric sau azotic diluat (10% — v. reactivii 4 *f* sau 3 *a*). În cazul unui extract diluat, adăugarea acetatului de sodiu ușurează precipitarea:



acid oxalic — oxalat de calciu

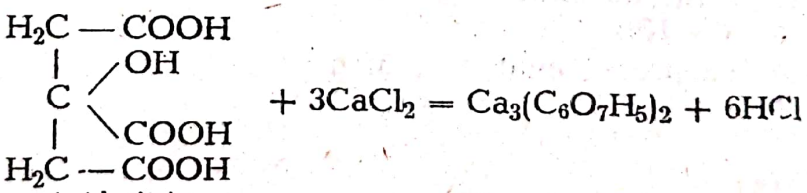
$$HCl + CH_3COONa \rightarrow CH_3—COOH + NaCl$$

b) Clorura de potasiu nu precipită acidul oxalic, deoarece acesta formează cu metalele alcaline săruri ușor solubile în apă.

3) *Acidul citric* se găsește în cea mai mare cantitate în sucul de lămîi, în afine și coacăze. Sucul de lămîi necoapte conține acid citric liber 6—7%. Acidul citric se pune în evidență din sucul diluat și filtrat de lămîi:

a) Acidul citric și citrații solubili la rece nu formează precipitat cu o soluție de $CaCl_2$ 10%, fiindcă citratul de calciu se dizolvă în apă rece, dar prin încălzire se precipită, căci în apa fierbinte nu se dizolvă.

b) Asigurînd un exces de $CaCl_2$ și adăugînd 1—2 picături de NaOH 10% extractului de lămîie, se va precipita citratul terțiar de calciu sub formă de fulgi albi. Acesta se dizolvă în NH_4Cl.



Acid citric — Citrat de calciu

Acidul citric apare în procesul de respirație al celulei ca un produs intermediar important.

Experiența nr. 182

DETERMINAREA ACIDITĂȚII TOTALE DIN PLANTE

Separarea acizilor organici este un procedeu destul de complicat. Din cauza aceasta ne limităm de obicei la determinarea acidității totale. O parte aliquotă a extractului apos se titrează în prezența fenol-

ftaleinei cu NaOH 0,1 *n*, și rezultatul se exprimă în acid malic sau citric raportat la materialul proaspăt. În cazul bacelor, la portocale și lămîi rezultatul titrării se exprimă de obicei în *acid citric deshidratat*, iar în cazul fructelor de mere, pere și drupe (caise, piersici, prune etc.), în *acid malic*.

Într-un balon Erlenmeyer de 200 ml se iau cu o pipetă 20—25 ml din extractul apos pregătit pentru determinarea zahărului (experiența nr. 160). Se diluează (pentru a diminua efectul culorii extractului) cu apă distilată rece, fiartă în prealabil. Se adaugă 2—3 picături de fenolftaleină (reactivul 33) și se titrează cu NaOH 0,1 *n* (reactivul 42) pînă la virarea soluției în roz intens. Balonul Erlenmeyer se așază în timpul titrării pe o placă albă de porțelan sau pe o bucată de hîrtie albă. În cazul extractelor puternic colorate se folosește ca indicator o fîșie de hîrtie albastră de turnesol, pe care se aplică o picătură de apă distilată, și la o distanță potrivită de aceasta, cîte o picătură din soluția titrată. Titrarea se consideră terminată cînd sub acțiunea picăturii luate din soluție hîrtia de turnesol nu se mai colorează în roșu, respectiv culoarea hîrtiei rămîne la fel ca în cazul picăturii de apă distilată.

1 ml NaOH 0,1 *n* = 0,0064 g acid citric deshidratat

1 ml NaOH 0,1 *n* = 0,0067 g acid malic deshidratat

$$\text{Aciditatea totală, în \%} = \frac{a \cdot f \cdot c \cdot 0{,}0064 \cdot 100}{n},$$

unde:

a este numărul de mililitri NaOH 0,1 *n* consumați la titrare;

f — factorul soluției de NaOH 0,1 *n*;

c — coeficientul de diluare (dacă din 250 ml extract s-au titrat 25 ml, *c* = 10);

n — greutatea probei analizate, în g.

Experiența nr. 183

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A VITAMINEI C

Vitamina C sau acidul ascorbic este o substanță cristalină albă, care se dizolvă bine în apă și are un gust acrișor. În stare solidă, ea este destul de stabilă; în soluțiile apoase este în schimb foarte sensibilă față de agenți oxidanți. Urme de metale grele (cupru, fier, argint etc.) accelerează descompunerea ei.

Punerea în evidență și dozarea vitaminei C se bazează pe proprietatea ei reducătoare. Deoarece stabilitatea vitaminei C în soluțiile acide este relativ mai mare, pentru extragerea ei din plante se folosesc acizi diluați (acid clorhidric 2%, acid metafosforic, respectiv tricloracetic 2—5% etc.).

Pentru pregătirea extractelor de vitamină C se folosește apă distilată în distilatoare de sticlă pentru evitarea impurităților de metale grele. Mărunțirea materialului de examinat se face pe o răzătoare de sticlă sau cu un cuțit inoxidabil.

Scanned with OKEN Scanner

1) Materialul de examinat (frunze de conifere, fructe de măceș, de ardei) se freacă într-un mojar cu o soluție de HCl 2% (reactivul 4 *h*) și nisip de cuarț. Se filtrează printr-un filtru cutat sau prin vată. La 4—5 ml de filtrat se adaugă o picătură de soluție saturată de *fericianură de potasiu* proaspăt preparată (circa 33 g/100 ml) și o picătură de soluție de clorură ferică 5%. În prezența acidului ascorbic $K_3[Fe(CN)_6]$ se reduce la $K_4[Fe(CN)_6]$ și formează cu ionii de Fe^{+++} ferocianură ferică (albastru de Berlin) de culoare albastră sau verzuie. Se recomandă executarea unei probe de control cu apă distilată. La aceasta din urmă se observă o colorație brună.

Prezența glucidelor reducătoare nu deranjează executarea reacției, fiindcă acestea pot să reducă fericianura de potasiu numai la cald.

2) Reacția vitaminei C cu *2-6-diclorfenol-indofenolul.* Soluția apoasă a diclorfenol-indofenolului, respectiv a sării sale de sodiu, este albastră, soluția acidă a ei este roz, iar în forma redusă este incoloră.

La 4—5 ml din extractul de vitamină C sau de zeamă de varză se adaugă picătură cu picătură o soluție de 2-6-diclorfenol-indofenol 0,01%, care trebuie să fie proaspăt preparată. Se va observa decolorarea reactivului. Dacă coloratia roz a soluției începe să se mențină, aceasta înseamnă că întreaga cantitate de vitamină C a fost oxidată. Într-o altă eprubetă se iau 4—5 ml din extractul vitaminei C, se adaugă cîteva picături de H_2O_2 3% (reactivul 12 *a*) și se încălzește pînă la fierbere, ca vitamina C să fie oxidată complet. În cazul acesta, prima picătură de reactiv adăugată va colora soluția în roz.

Experiența nr. 184

DETERMINAREA VITAMINEI C CU METODA IODOMETRICĂ

În cazul extractelor vegetale, această metodă dă în general valori mai mari decît metoda bazată pe folosirea reactivului 2-6-diclorfenol-indofenol. Datorită simplicității și rapidității ei, metoda iodometrică este totuși folosită pentru determinări în serie la aceeași specie de plantă, cînd datele obținute dau valori comparabile.

Metoda iodometrică folosește ca oxidant iodul care provine din acțiunea iodatului asupra iodurii de potasiu:

$$KIO_3 + 6HCl + 3KI = 3I_2 + 6KCl + 3H_2O$$

$$J_2 + H_2O = O + 2HI$$

Un atom de oxigen oxidează o moleculă de acid ascorbic, respectiv un echivalent-gram de oxigen oxidează ½ mol de acid ascorbic:

$\frac{176,12}{2} = 88,06$ g.

Se folosește o soluție de KIO_3 $n/250$ (0,1427 g/1 000 ml). Titrul soluției în vitamina C este: 1 ml $n/250$ $KIO_3 = \frac{88,06}{250 \cdot 1\,000} = 0,0003522$ g $= 0,3522$ mg vitamină C.

Dintr-o probă medie făcută din materialul de examinat (fructe, legume, măcieș etc.) se iau 1—20 g. Cîntărirea se poate face și la o balanță tehnică cu o precizie de 0,01 g sau la balanța analitică. Materialul cîntărit se freacă într-un mojar cu puțină soluție de HCl 2% (reactivul 4 *h*) și 5 g de nisip de cuarț (lipsit de fier!) sau praf de sticlă, pînă se obține o pastă omogenă (circa 10 minute). Se mai adaugă 40—50 ml HCl 2% și după o scurtă amestecare se lasă să se sedimenteze cîteva minute, pe urmă se filtrează într-un balon cotat de 100 ml (sau 250 ml, în funcție de cantitatea vitaminei C). Materialul rămas în mojar se spală de 3—4 ori cu HCl 2%, decantînd și filtrînd soluția de spălare în balonul cotat, pe urmă se aduce la semn cu HCl 2% și se agită puternic.

Într-un Erlenmeyer de 100 ml se pipetează din extractul obținut 10 ml și i se adaugă 30 ml de apă distilată, 5 ml de iodură de potasiu 1%, 5 ml HCl 2% și 5 ml de clei de amidon 0,2% (reactivul 20 *c*), ca indicator. Se titrează cu o soluție de KIO_3 $n/250$ pînă la albastru-deschis persistent 30 secunde.

Calculul rezultatului:

$$\text{Vitamina C, în mg \%} = \frac{a \cdot 0,3522 \cdot c \cdot 100}{n},$$

unde:

a este numărul de mililitri KIO_3 folosiți la titrare;
c — coeficientul de diluare, în exemplul de față $10 \times 10 = 100$;
n — greutatea probei analizate, în g.

Experiența nr. 185

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A GLUCOZIDELOR

Glucozidele sînt substanțe compuse dintr-un component glucidic și unul nezaharic, numit *aglucon*. Componentul glucidic este reprezentat în majoritatea cazurilor de glucoză, ramnoză și galactoză. Componentul nezaharic (agluconic) poate să fie din grupa antocianidinelor, alcoolilor, fenolilor, flavonelor, flavonolelor, cumarinelor, oxiantrachinonelor etc.

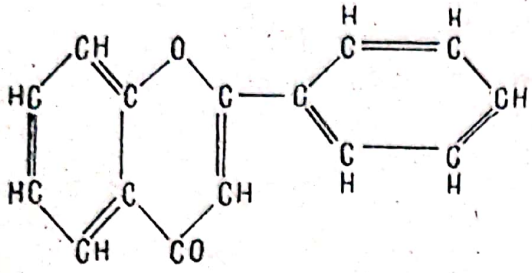
Punerea în evidență a glucozidelor se bazează pe reacțiile specifice ale agluconilor.

Dintre glucozide se cunosc o serie de pigmenți vegetali și de medicamente de mare importanță. Cercetările recente au arătat că și unele substanțe antibiotice (de exemplu, streptomicina) sînt glucozide.

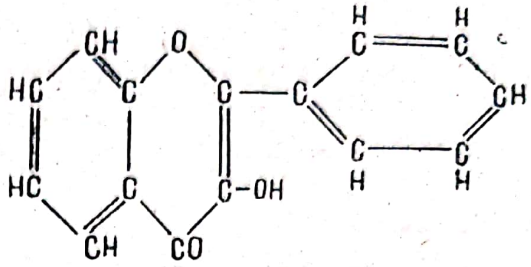
Glucozide flavonice. Pigmenții flavonici sînt foarte răspîndiți în sucul celular al plantelor superioare. Numeroși coloranți galbeni naturali din flori, frunze, lemn, scoarță și chiar organe subterane aparțin acestor compuși. Pigmenții flavonici se găsesc dizolvați în sucul vacuolar, uneori în diluție foarte mare, și adesea ei nu produc nici un efect de culoare (mai ales la țesuturile ce conțin clorofilă). Uneori însă, dau culoare galbenă țesutului vegetal.

Scanned with OKEN Scanner

Pigmenții flavonici sînt alcătuiți din *flavone* sau *flavonoli* (în ciclul pirolic central un hidrogen este înlocuit cu un oxidril) și din *glucoză* sau altă hexoză sau pentoză.



flavonă



flavonol

Pigmentul izolat din plante este un praf cristalin galben, fără gust și miros. Se dizolvă ușor în alcool etilic, în acetonă pură caldă, în acid tricloracetic 8% la fierbere și în apă distilată tot la fierbere. Este insolubil în apă rece, eter de petrol, eter sulfuric, benzen, cloroform și alcool metilic 85%.

Pigmenții oxiflavonici (sau leucoantocianii) în mediu acid dau naștere la antociani.

1) *Punerea în evidență a pigmenților flavonici în țesuturi fără clorofilă.* Luăm flori albe de trandafir sau de ghiocei *(Galanthus nivalis)*, de *Narcissus poeticus, Syringa vulgaris, Polygonum fagopyrum, Lilium candidum*, var. alba, de *Phlox* și le punem într-un pahărel cu apă pe o placă de sticlă; alături punem un cristalizor mic cu NH_4OH concentrat și acoperim totul cu un clopot de sticlă. În atmosfera aceasta de amoniac, petalele vor deveni *galbene*, ca urmare a formării unor săruri galbene ale flavonelor sau flavonolilor din sucul celular.

Prin neutralizare cu acizi, culoarea galbenă dispare. Se scot florile devenite galbene și se trec într-o atmosferă de acid (HCl concentrat) sub clopotul de sticlă aerisit de amoniac. Constatăm dispariția culorii galbene.

2) *Punerea în evidență a pigmenților flavonici din extracte. Extragerea* se poate face din material vegetal proaspăt mărunțit sau mojarat (fără nisip și talc), prin fierbere (5—10 minute) cu apă, sau apă acidulată, sau acetonă pură, sau alcool etilic, sau acid tricloracetic 8%. Folosim flori albe (v. punctul 1), petale galbene de *Narcissus*, rădăcini de *Taraxacum*, mere galbene sau frunze verzi de *Viola odorata, Sambucus nigra, Taraxacum officinale, Vitis riparia, Ampelopsis hederacea*. În cazul frunzelor (țesuturi cu clorofilă), extragerea o facem prin fierbere cu apă. Filtrăm extractul și-l răcim. Cu filtratul facem cîteva reacții chimice. Reacțiile date de compușii flavonici sînt asemănătoare cu ale taninurilor dar nu sînt identice.

a) Adăugăm filtratului cîteva picături de *alcalii* concentrate (NH_4OH sau NaOH, KOH, Na_2CO_3). Se produce o culoare galbenă sau galben-portocalie (taninurile se colorează în galben-roșcat). Neutralizînd soluția cu HCl, ea se decolorează.

b) Adăugînd filtratului *săruri de fier* (soluţie de $FeCl_3$ sau $FeSO_4$ 1—5%), apare o coloraţie verde, verde-oliv sau oliv (taninurile dau precipitat verde sau albastru). Această reacţie arată caracterul lor fenolic.

c) Pigmenţii flavonici reduc soluţia *amoniacală de argint* (reactivul 14), la rece încet, la cald rapid (ceea ce arată tot caracterul fenolic).

d) Acetatul neutru de Pb 10% dă cu extractul flavonic un precipitat floconos (nu granulos) galben sau galben-portocaliu (taninurile dau precipitat alb). Această reacţie este foarte caracteristică pentru pigmenţii flavonici.

e) Prin fierbere cu HCl 5% (reactivul 4 *f*), pigmenţii flavonici se hidrolizează în componentul agluconic (= pigmentul propriu-zis) şi în glucoză. După neutralizare, glucoza reduce reactivul Fehling (reactivul 63).

f) Reducerea pigmentului galben în pigment roşu-violet (H. Chirilei). Într-o eprubetă se pun 0,5 g de praf de zinc metalic şi 5 ml dintr-un extract acetonic de pigmenţi flavonici. După ce s-a depus praful de zinc la fundul eprubetei, deasupra lichidului se adaugă un strat izolator de 2 cm de alcool amilic (alcool reducător). Soluţia de pigment în contact cu praful de zinc se colorează în galben-portocaliu. Se adaugă pe urmă 0,5 ml HCl concentrat, picurîndu-l încet pe peretele eprubetei. Soluţia galbenă se decolorează prin adăugarea acidului, dar după cîteva minute, cînd începe să se degaje hidrogenul nativ, soluţia începe să se coloreze în roşu-violet de la fundul eprubetei în sus. Pe urmă, pigmentul format trece în alcoolul amilic, care se colorează în roşu-violet. Cînd pigmentul este redus total, stratul acetonic (hipofaza) devine incolor, căci pigmentul a trecut în întregime în alcoolul amilic (epifaza). Culoarea soluţiei este foarte stabilă.

Pigmentul roşu-violet se decolorează prin oxidare cu perhidrol în mediu acid. Deci prin oxido-reducere, antocianii şi compuşii flavonici se transformă unii în alţii.

Antocianii (glucozidele care conţin antocianidine). Antocianii sînt pigmenţi foarte răspîndiţi în plantele superioare. Au caracter de indicator; în general, în mediu acid se colorează în roşu, în mediu alcalin în albastru, iar în mediu neutru în violet.

Pentru punerea în evidenţă a antocianilor putem folosi sfeclă roşie, varză roşie, fructe de *Ligustrum*, frunze roşii de *Coleus*, flori roşii şi albastre (de exemplu, de trandafir, de *Paeonia*, *Pelargonium*, *Primula*, *Cyclamen* etc.).

1) *Localizarea pigmenţilor în celule.* Facem secţiuni din frunze de *Coleus*, varză roşie sau fructe de *Ligustrum* şi le examinăm la microscop cu o mărire mijlocie. Vom observa că pigmenţii clorofilieni se găsesc în cloropastele din protoplasmă, iar antocianii sînt dizolvaţi în sucul vacuolar.

2) *Separarea antocianilor de pigmenţii clorofilieni.* a) *Pe baza solubilităţii diferite* în solvenţi organici: din frunze roşii de *Coleus*, de viţă sălbatică (toamna) sau varză roşie se extrag cu alcool etilic 70%

(reactivul 10 *b*) la cald, apoi extractul roșu se amestecă cu o cantitate egală de benzină și se agită bine. Pigmenții verzi trec în benzină, iar antocianii rămîn în alcool.

b) *Separare simplă pe hîrtie cromatografică:* pe o fîșie de hîrtie cromatografică, la 1 cm distanță de la capătul inferior, punem una lîngă alta cîte o picătură din sucul presat din fructele de *Ligustrum, Sambucus*, din sfeclă roșie, varză roșie etc. Apoi introducem hîrtia cromatografică într-un cilindru de sticlă, în care am pus un strat de alcool etilic gros de 2—3 mm, și-l închidem ermetic. Într-o oră, pigmenții se separă. Antocianii rămîn aproape de linia de start, pe cînd pigmenții clorofilieni formează pete verzi-gălbui aproape de frontul dizolvantului. Examinăm fluorescența lor sub lampa de analiză UV.

3) *Schimbarea culorii după pH-ul mediului. a)* Pe o placă de sticlă așezăm două clopote de sticlă. Sub unul dintre ele introducem o bucată de vată îmbibată cu HCl concentrat sau acid acetic concentrat și cîteva petale roșii și albastre. Petalele albastre se înroșesc, cele roșii rămîn neschimbate, eventual își schimbă nuanța. Sub celălalt clopot punem vată îmbibată cu NH_4OH concentrat și petale de flori roșii și albastre. Petalele roșii se înălbăstresc, iar cele albastre devin verzi și după un timp mai îndelungat se îngălbenesc. Culoarea galbenă se datorește pigmenților flavonici prezenți alături de antociani.

b) Pe o lamă de microscopie, într-o picătură de NH_4OH diluat (0,1 *n*, reactivul 37 *a*), așezăm epidermă de ceapă roșie și o examinăm la microscop. Prin schimbarea culorii sucului vacuolar putem urmări pătrunderea soluției alcaline în vacuole.

c) Extragerea antocianilor se poate face din material vegetal mărunțit, prin fierbere cu apă distilată sau la rece cu HCl 1% sau acid acetic 10% (reactivul 4 *i* sau 2 *c*).

Preparăm un extract apos din sfeclă și varză roșie sau fructe de *Ligustrum* și-l filtrăm sau îl decantăm. Din sfeclă obținem un extract roșu, iar din varză sau *Ligustrum* unul albastru. Din fiecare extract punem circa 10 ml în cîte o eprubetă. La fiecare se adaugă din biuretă, picătură cu picătură, acid acetic, respectiv NH_4OH diluat (0,1 *n*), și se vor observa schimbările intervenite în culoarea extractelor față de extractele originale (martor).

d) Adăugînd un cristal de timol (dezinfectant) extractului apos obținut din varza roșie, acesta se poate păstra cîtva timp și poate fi întrebuințat în loc de soluție de turnesol (Lackmus).

4) *Reacții cu săruri grele. a)* La extractele apoase ale diferiților antociani adăugăm cîteva picături de acetat de plumb 10%. Obținem precipitate de diferite culori (verzi, albastre, roșii, violete).

b) Extractele apoase ale antocianilor cu o picătură de $FeCl_3$ 10% dau coloratie închisă, ca și taninurile, fapt ce arată o înrudire cu acestea prin caracterul fenolic.

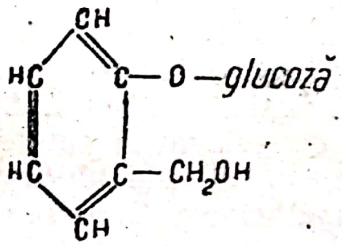
5) *Schimbarea culorii după vîrsta florilor.* La unele flori din familia *Borraginaceae (Myosotis, Echium, Pulmonaria, Anchusa)* se poate observa că bobocii sînt de culoare roz, iar florile — complet deschise — albastre.

Scanned with OKEN Scanner

6) *Influența luminii asupra formării antocianilor.* În două ghivece semănăm semințe de *Fagopyrum* și le așezăm în cameră obscură la 20—25°C. Cînd plantulele etiolate au o lungime de 6—8 cm, scoatem unul din ghivece la lumină difuză și după 4 ore de iluminare îl punem din nou la întuneric. După 12 ore în plantulele expuse la lumină se observă formarea antocianilor. Plantulele din ghiveciul-martor, ținut mereu la întuneric, nu se colorează.

Glucozidele fenolilor. În aceste glucozide, componentul glucidic este legat de o grupare fenolică.

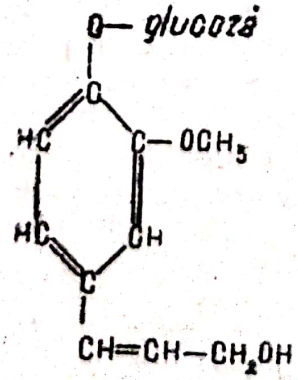
1) *Salicina* se găsește în coaja și frunzele salciei *(Salix alba, S. amygdalina, S. purpurea)*, de unde și numele ei. Sub acțiunea acizilor la cald se descompune în glucoză și în alcoolul saligenina:



salicina

O ramură de salcie *(Salix alba)* se taie transversal foarte oblic și suprafața de secțiune, precum și suprafața internă a cojii se pensulează cu acid sulfuric 70% (reactivul 8 *d*), cu ajutorul unei baghete. Peste 5—10 minute, suprafața pensulată se colorează în roșu-violet, culoare caracteristică salicinei.

2) *Coniferina*, izolată întîi din sucul cambial al coniferelor și din sparanghel, dar găsită apoi și în alte plante, dă prin hidroliză glucoză și *alcool coniferilic* (alcool *p*-hidroxi-*m*-metoxicinamic). Coniferina este un component al ligninei, deci se găsește în toate țesuturile lignificate; de aceea, prezența ei este o indicație indirectă și pentru lignină.



coniferina

Pe o bucată de lemn de brad picurăm o soluție alcoolică de timol 10%; pe același loc se presară pulbere de clorat de potasiu ($KClO_3$) și se umezește cu o picătură de HCl concentrat. Se obține o coloratie verde-albăstruie.

3) *Taninurile naturale* sînt substanțe cu gust astringent, care în soluție apoasă au însușirea de a transforma pielea crudă în piele tăbăcită. Ele sînt mult răspîndite în natură; se găsesc în coaja, frunzele și fructele necoapte ale multor plante (stejar, molid, castan nobil, gogoși de ristic). Ele sînt derivați fenolici care nu conțin azot în molecula lor. În general, sînt glucozide formate din glucoză și acid galic (acid trioxibenzoic).

Pentru punerea în evidență a taninurilor se iau circa 10 g de făină de gale de stejar, coajă de stejar, coajă de castane sălbatice sau 2—3 g de ceai și se fierb cu 100 ml de apă distilată timp de 10—15 minute. Pe urmă se filtrează și cu extractul obținut se execută următoarele reacții:

a) În extractul de tanin picurăm o soluție proaspătă de gelatină 0,5%. Se formează un precipitat alb floconos. Pe această reacție se bazează tăbăcitul pieilor.

b) La cîțiva mililitri de extract se adaugă cîteva picături de clorură ferică 10% (excesul trebuie evitat). În funcție de concentrația filtratului se formează o coloratie brună-închis sau neagră-verzuie. Pe această reacție se bazează fabricarea cernelii vegetale. Reacția arată caracterul fenolic al taninurilor (sărurile ferice dau coloratii închise cu fenolii).

c) Pe suprafața secțiunii proaspete a organelor vegetale picurăm soluție de clorură ferică 10%. După gradul de intensitate a coloratiei negre se poate aprecia conținutul în taninuri.

d) Acetatul de plumb 5% precipită cantitativ taninurile.

Glucozidele cianhidrinelor. Din această grupă a glucozidelor face parte *amigdalina*, care se găsește în semințele de *Prunoideae* (prune, cireșe, migdale, caise), în semințe de mere, precum și în frunzele plantei *Prunus laurocerasus*. Sub acțiunea enzimei *emulsina* sau în urma hidrolizei acide, amigdalina se descompune în componenții săi: 2 molecule de *D*-glucoză, 1 moleculă de benzaldehidă și 1 moleculă de acid cianhidric.

1) Punerea în evidență a amigdalinei se bazează pe reacția acidului cianhidric pus în libertate din glucozid. Se freacă într-un mojar 10 bucăți de semințe cojite de migdale amare sau de caise. Materialul obținut se amestecă într-un balon Erlenmeyer cu 30 ml de apă distilată și cîteva picături de acid clorhidric. Flaconul se închide și se lasă să stea timp de 1—2 zile într-un termostat la 45°C. Sub acțiunea emulsinei, amigdalina se descompune și se simte mirosul caracteristic al acidului cianhidric, extrem de toxic. (Temperatura optimă a emulsinei este între 40 și 50°C. Enzima este activă numai în mediu slab acid sau slab alcalin.)

Se iau cîțiva mililitri din materialul de examinat într-o eprubetă și se adaugă 1—2 ml de soluție de azotat mercuros 3% proaspăt preparată. Peste cîteva minute se poate observa o coloratie cenușie-închis.

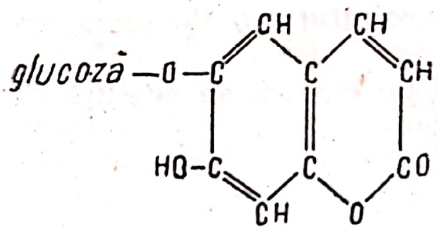
Scanned with OKEN Scanner

cauzată de punerea în libertate a mercurului metalic: $Hg(NO_3)_2 + 2HCN = Hg(CN)_2 + Hg + 2HNO_3$.

2) Utilizăm 3 cilindri de sticlă *A*, *B*, *C*, închiși cu dop șlefuit. În cilindrul *A* atîrnăm de dop o frunză de *Prunus laurocerasus* și o fîșie de hîrtie de filtru înmuiată în acid picric 1%, iar în momentul utilizării, stropită cu Na_2CO_3 10%. În cilindrul *B* procedăm la fel, dar pe fundul cilindrului punem cîțiva mililitri de cloroform. În cilindrul *C* punem o frunză triturată în mojar și atîrnăm de dop hîrtie picrosodată.

În cazul cilindrului *A*, cînd frunza este intactă, hîrtia picrosodată se menține galbenă; în *B* și *C*, cînd s-a suprimat semipermeabilitatea protoplasmei prin narcoză (cloroform), respectiv prin triturare (mecanic), enzima emulsina a descompus amigdalina și acidul cianhidric a reacționat cu acidul picric-sodat, colorînd hîrtia în roșu.

Glucozidele cumarinei. *Esculina* din coaja castanului sălbatic *(Aesculus hippocastanum)* și *fraxina* din coaja de frasin *(Fraxinus excelsior)* sînt glucozide cu cumarină în molecula lor:



esculina

1) Se răzuiește coaja unui lăstar tînăr (de 1—2 ani) de castan sălbatic într-un pahar Berzelius umplut cu apă (este preferabil un vas cu pereți paraleli). Vasul se așază la lumina soarelui pe o bază neagră. Esculina incoloră din coajă se dizolvă după cîteva minute și arată o fluorescență albastră (de azur). Cu cît lumina este mai puternică și ecranul de culoare mai închisă, fluorescența va fi mai intensă. La sfîrșit, fluorescența este acoperită de substanțele brune tanante care se dizolvă în apă.

2) Din coajă de frasin poate fi identificată cu aceeași metodă fraxina. Glucozidul acesta prezintă o fluorescență verde. În cazul acesta, fenomenul de fluorescență se poate observa un timp mai îndelungat, deoarece coaja frasinului conține mai puține taninuri.

3) Sub acțiunea acizilor, fluorescența dispare. Aceasta se poate observa prin tratarea soluțiilor examinate cu cîteva picături de acid clorhidric concentrat.

Saponine. Saponinele sînt glucozide foarte răspîndite în regnul vegetal. Denumirea lor se datorește proprietății lor de a forma spumă abundentă cu apa. Ele sînt substanțe otrăvitoare, avînd acțiune hemolitică. Structura agluconului din molecula lor nu este precis cunoscută, se știe doar că face parte din grupa sterinelor.

Castane sălbatice curățite de coajă și tăiate mărunt se încălzesc cîteva minute cu apă distilată, apoi se decantează.

Scanned with OKEN Scanner

1) O porțiune a soluției apoase se agită puternic într-o eprubetă. Se face o spumă abundentă.

2) La cîțiva mililitri de soluție, într-o eprubetă, se adaugă cu atenție acid sulfuric concentrat pe peretele eprubetei ținute înclinat. Se formează un inel brun-roșcat.

Experiența nr. 186

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A ALCALOIZILOR

Alcaloizii sînt substanțe organice azotate de origine vegetală, cu caracter bazic și în majoritatea cazurilor cu o puternică acțiune fiziologică. Sînt localizați în anumite organe ale plantelor (frunze, semințe, rădăcini, coajă), ca săruri ale acizilor vegetali obișnuiți (acizii citric, malic, oxalic, tartric). Au un rol deosebit de important în medicină. Unii dintre ei, ca nicotina (din tutun), cofeina (din boabele de cafea și frunzele de ceai), exercită o influență stimulatoare asupra sistemului nervos.

Pentru izolarea alcaloizilor se tratează planta mărunțită sau extractul ei apos cu o bază (hidroxid alcalin sau amoniac), spre a pune în libertate alcaloidul din sărurile sale. Mulți alcaloizi formează precipitate insolubile sau săruri greu solubile cu unii reactivi caracteristici, cum sînt: soluția de iod în iodură de potasiu (reactiv Wagner), tetraiodomercuriatul de potasiu (K_2HgI_4, reactiv Mayer), acidul fosfor-wolframic, acidul fosfor-molibdenic, acidul picric, taninul și ferocianura de potasiu. Reactivii Wagner și Mayer se utilizează cel mai frecvent.

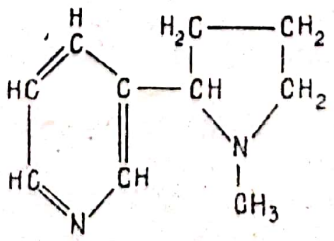
Reactivul Wagner amestecat cu soluția apoasă a sărurilor de alcaloizi formează un precipitat brun-deschis sau închis, cu următoarea compoziție generală: alcaloid·HI·I .

Reactivul Mayer reacționează în mediu neutru sau slab acid și formează un precipitat alb sau alb-gălbui cu majoritatea alcaloizilor. Colhicina, cofeina și solanina nu dau precipitat cu acest reactiv. Compoziția generală a precipitatului este alcaloid·HI(HgI_2) .

Soluția proaspătă de tanin 5% formează, în mediu neutru și slab acid, cu majoritatea alcaloizilor un precipitat galben care se dizolvă în alcool etilic, acid acetic și în săruri de amoniu.

Mulți dintre alcaloizi dau o coloratie vie cu acizii sulfuric, azotic, cromic și cu amoniacul. Această coloratie poate servi la identificarea alcaloizilor respectivi.

1) *Nicotina* se poate extrage ușor din frunzele de tutun, bogate în această substanță, în majoritate sub forma sărurilor, cu acizii citric și malic. *Nicotiana tabacum* conține circa 2%, iar *N. rustica* circa 8% nicotină.



nicotina

Nicotina pură este un lichid incolor, uleios, cu miros ameţitor. La aer se colorează în brun. Este una dintre otrăvurile cele mai puternice. Se foloseşte în protecţia plantelor.

O frunză mărunţită de tutun sau tutunul dintr-o ţigară se încălzeşte cu 10—15 ml de apă, pe urmă se filtrează şi se răceşte. Cîţiva mililitri din filtratul brun-gălbui se amestecă cu 1—2 ml de reactiv Wagner (reactivul 57). Se formează un precipitat brun-roşcat, care se dizolvă prin încălzire.

2) *Berberina* este un derivat al izochinolinei, avînd următoarea compoziţie: $C_{20}H_{17}NO_4$. A fost descoperită în arbustul dracilă *(Berberis vulgaris)* şi în alte plante. Sărurile ei sînt galbene. Se încălzesc circa 10 g de coajă de *Berberis vulgaris* cu 50 ml de apă distilată pînă la fierbere. Berberina se dizolvă şi se obţine o soluţie galbenă, care se decantează sau se filtrează.

a) Cîţiva mililitri din filtrat se tratează cu 1—2 ml de reactiv Wagner. Se formează un precipitat brun de periodură de berberină ($C_{20}H_{17}NO_4 \cdot HI \cdot I_2$), iar cu reactivul Mayer (reactivul 53) se obţine un precipitat galben.

b) La cîţiva mililitri din filtrat se adaugă cîteva picături dintr-o soluţie proaspătă de tanin 5%. Se obţine un precipitat galben-brînzos, care se dizolvă în acid acetic, alcool etilic şi clorură de amoniu.

c) Cîţiva mililitri de filtrat se amestecă cu 1—2 ml de acid azotic concentrat. Se observă o coloraţie roşie intensă.

3) *Chinina* se găseşte în coaja arborilor de chinină (numită şi coajă de China). Pentru punerea în evidenţă se dizolvă în apă caldă cîteva cristale de sulfat de chinină şi cu soluţia obţinută se execută următoarele reacţii generale:

a) Cu acid picric 1% apare un precipitat galben.

b) Cu reactivul Wagner se formează un precipitat brun-roşcat.

c) Cu reactivul Mayer apare un precipitat alb.

4. *Lupinina* şi *lupinidina* sînt alcaloizii lupinului *(Lupinus albus)*. Secţiuni grosiere făcute din diferite organe ale lupinului amar (bogat în alcaloizi) şi lupinului dulce (sărac în alcaloizi) se aşază pe o lamă şi se zdrobesc cu ajutorul unei baghete de sticlă. Se pune o picătură de reactiv Wagner pe materialul zdrobit şi se apreciază conţinutul organului respectiv în alcaloizi după cantitatea precipitatului brun-închis format.

Aceeaşi experienţă poate să fie executată şi cu diferitele organe ale fasolei pentru control.

5. *Solanina* se găseşte în cantităţi maxime în tuberculii de cartofi încolţiţi, şi anume în vîrfurile vegetative. În starea latentă a tuberculilor se găseşte în cantităţi mai mari în jurul „ochiurilor" şi sub coajă.

Pe o felie de cartof necojit se aduce o picătură de acid sulfuric concentrat. Apare o coloraţie roşie, mai ales în straturile celulare imediat de sub coajă. Coloraţia trece după cîteva minute în violet.

Scanned with OKEN Scanner

B. CIRCULAȚIA SUBSTANȚELOR ORGANICE ÎN PLANTE

Experiența nr. 187

TRANSPORTUL ASIMILATELOR DIN FRUNZE

Substanțele organice care se formează în frunze, nu rămîn în ele, ci circulă în toate organele plantei.

1) Migrarea amidonului din frunze se poate arăta în felul următor: frunze de *Phaseolus, Tropaeolum, Atropa, Solanum* sau *Cucurbita* se examinează către sfîrșitul unei zile luminoase cu proba macroscopică de iod a lui Sachs (experiența nr. 133), pentru a pune în evidență cantitatea de amidon. În urma fotosintezei active se obține o colorație albastră-închis. De la aceleași plante se examinează frunzele în dimineața zilei următoare și se constată că ele nu mai conțin amidon (nu mai dau culoare albastră cu iodul) sau conțin foarte puțin amidon de-a lungul nervurilor. Deci în cursul nopții amidonul hidrolizat de enzima amilază a migrat din frunze. Cel mai mult timp se menține amidonul în apropierea vaselor libero-lemnoase.

Experiența este mai precisă dacă în locul probei Sachs se execută dozarea glucidelor reducătoare și a amidonului.

2) Transportul asimilatelor se face prin nervurile limbului și prin fasciculele liberiene ale pețiolului. Pentru a dovedi aceasta, în seara unei zile de vară se taie transversal în 2—3 locuri nervurile de pe dosul unei jumătăți a limbului la o frunză de viță-de-vie sau de arțar, avînd grijă ca să întrerupem numai vasele liberiene. Vasele de lemn trebuie să rămînă intacte, pentru a nu întrerupe aprovizionarea frunzei cu apă. Se lasă frunza și planta pînă în dimineața următoare, cînd se va executa proba cu iod a lui Sachs. Se constată că jumătatea limbului cu nervurile secționate este încărcată cu amidon, pe cînd jumătatea intactă este lipsită de amidon (experiența lui Czapek).

3) Frunzele pierd în timpul nopții prin migrarea substanțelor asimilate 10—13% din greutatea lor uscată. Seara se rup și se cîntăresc 20—40 de frunzișoare de salcîm luate de pe o jumătate a frunzelor compuse și se determină greutatea lor uscată (v. experiența nr. 47). Dimineața următoare se rup și se cîntăresc perechile frunzișoarelor și se determină de asemenea greutatea lor uscată.

De exemplu, după Greguss:

seara greutatea a 20 frunzișoare de salcîm (de 70—76 mm lungime) este	4,20 g
dimineața greutatea a 20 frunzișoare de salcîm (de 70—76 mm lungime) este	3,87 g
diferența =	0,33 g

Scanned with OKEN Scanner

După Maximov:

seara substanța uscată a 1 dm^2 dintr-o frunză de floarea-soarelui este . . . . . 0,8 g

dimineața substanța uscată a 1 dm^2 dintr-o frunză de floarea-soarelui este . . . . . 0,7 g

diferența = 0,1 g

Experiența nr. 188

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A CĂILOR DE TRANSPORT ALE ASIMILATELOR ÎN TULPINĂ PRIN METODA INELĂRII

Substanțele organice circulă în tulpină prin vasele de liber.

1. Se iau două ramuri de salcie sau de plop, pe cît posibil egale, de 20—40 cm lungime și de 1—1,5 cm grosime (cu o cantitate mare de substanțe de rezervă), ale

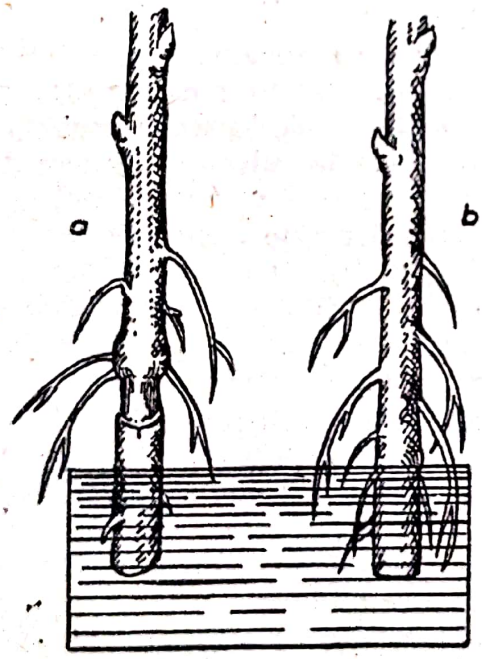


Fig. 126. Ramură de salcie *(Salix fragilis)*:
a — inelată; *b* — intactă (pentru control).

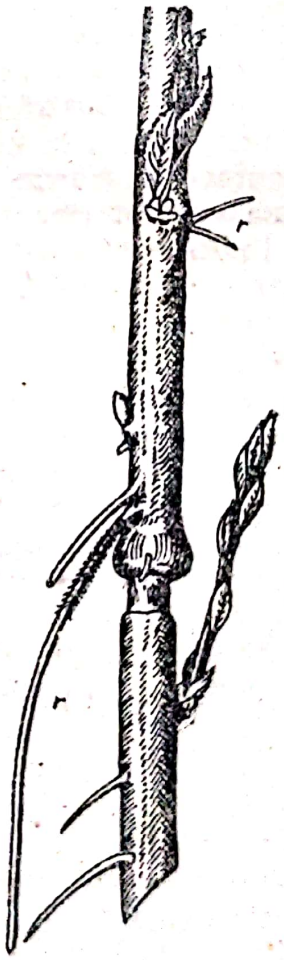


Fig. 127. Inelarea unei ramuri de păr; umflătură și rădăcini adventive *(r)* rezultate în urma acumulării asimilatelor (după Johnson).

căror muguri nu s-au dezvoltat încă. Cu ajutorul unui cuțit ascuțit se îndepărtează la una dintre ele scoarța de jur împrejur pe o distanță de 2 cm înălțime, la 6—8 cm de la capătul inferior. În acest fel se obține o decorticare inelară. Resturile de scoarță și de liber se rad cu precauție de pe xilem, care pe urmă se acoperă cu ceară de altoire sau cu parafină, ca să nu se usuce. Mugurii de sub zona inelată se îndepărtează. Cealaltă ramură se lasă intactă pentru control. Ambele ramuri se pun într-un borcan cu apă, se astupă și se pune la întuneric. Apa din borcan se schimbă regulat la 2—3 zile. După 4—5 săptămîni se observă pe ramuri apariția rădăcinilor adventive. Pe ramura de control neinelată, rădăcinile adventive apar peste tot. La ramura inelată se observă o mare deosebire între cele 2 părți separate prin inelare. Capătul inferior, scurt, nu dezvoltă rădăcini de loc sau dezvoltă numai cîteva rădăcini foarte slabe, pe cînd capătul superior, lung, dezvoltă rădăcinile și mugurii în mod normal (fig. 126). Explicația este că în capătul scurt materiile de rezervă sînt puține și comunicația cu capătul cel lung, cu multe materii de rezervă, este întreruptă prin inelare.

Tăietura inelară se aplică coardelor de viță pentru a grăbi coacerea strugurilor.

Experiența inelării nu reușește cu plante care au fascicule bicolaterale (fascicule liberiene și în măduvă), cum este cazul la *Solanaceae* și *Cucurbitaceae*.

2. Într-o pădure sau grădină, după ce copacii și arbuștii au înfrunzit, se alege o ramură de grosimea unui deget și cu un cuțit ascuțit se scoate din scoarța ei un inel de 3 cm lățime, mai jos de locul înfrunzit (sau se taie frunzele de dedesubtul inelării). Resturile scoarței și liberul se rad cu băgare de seamă pînă ce apare xilemul. Acesta se acoperă cu ceară de altoire ca să nu se usuce.

După cîteva luni, deasupra inelării se formează o umflătură (fig. 127). Aceasta este rezultatul acumulării substanțelor organice care vin de la frunze prin vasele de liber și al formării calusului pe părțile rănite ale scoarței.

După formarea umflăturii, se fac secțiuni deasupra și dedesubtul inelării, se tratează cu soluție de iod (reactivul 64) și se compară la microscop cantitățile de amidon. Se obțin rezultate mai precise dacă se determină glucidele reducătoare (experiența nr. 160) dintr-o porțiune de deasupra și dedesubtul inelării.

BIBLIOGRAFIE

1. Barta, György, *Enzimek*, Budapest, 1954.
2. Bielozerskii, A. N., Proskuriakov, I. N., *Prakticeskoe rukovodstvo po biohimii rastenii*, Moskva, 1951.
3. Bíró, E., Hoffmann, G., Meister, I., Széplaki, M., *Zsir- és olajipari laboratóriumi kézikönyv*, Budapest, 1952.

4. Brauner, L., *Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum*, I. Teil, *Die Chemie des Pflanzenkörpers*, Jena, 1929.
5. Brauner, L., Bukatsch, Fr., *Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum*, Jena, 1961. Gustav Fischer Verlag (6. Auflage).
6. Bruckner, Gy., *Szerves kémia*, vol. I—II, Budapest, 1954—1955.
7. Brugovitzky, E., *Növényélettani vizsgálatok*, vol. I—II, Bucureşti, 1956—57.
8. Chirilei, H., *Recherches sur un glucoside flavonique obtenu à l'état cristallisé des fleurs de Polygonum fagopyrum* L., Bull. de la Section Sc. Ac. Roum., T. 27, 1944
9. Chirilei, H., *Recherches sur un glucoside flavonique générateur d'un pigment rouge violet, obtenu à l'état cristallisé des pétales de Rosa „Frau Karl Druschky"*, Ac. Roum. Bull. de la Section Sc., T. XXVII, 1945.
10. Chirilei, H., *Contribution à l'étude cytologique et histochimique des pigments flavoniques contenus dans le vacuome des cellules épidermiques des fleurs et feuilles de végétaux supérieurs leurs relation avec les pigments antocyaniques*, Annales de l'Académie de R.P.R. — Section des Sciences géologiques, géographiques et biologiques, Série A., Tome I., Mémoire 7, Édition de l'Académie de R.P.R., Bucureşti, 1949.
11. Czapek, F., *Biochemie der Pflanzen*, Jena, 1925.
12. Detmer, W., *Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum*, Jena, 1912.
13. Dzsaparidzse, L. I., *Praktikum po mikroskopiceskii himii rastenii*, Moskva, 1953.
14. Ermakov, A. I., Arasimovici, V. V., Smirnová—Iconnicova, M. I., Murri, I. C., *Metodi biochimicescovo isledovania rastenii*, Moskva—Leningrad, 1952.
15. Gheorghiu, C. V., *Coloranţi organici*, Iaşi, 1947.
16. Grafe, V., *Ernährungsphysiologisches Praktikum der höheren Pflanzen*, Berlin, 1914.
17. Greguss, P., *400 egyszerű növényélettani kisérlet*, Szeged, 1936.
18. Guttenberg, H., *Lehrbuch der Allgemeinen Botanik*, Berlin, 1952.
19. Hais, I. M., Macek, K., *Cromatografia pe hîrtie*, Bucureşti, 1960, (traducere din limba cehă).
20. Ivanov, N. N., *Metodi fiziologhii i biohimii rastenii*, Moskva, 1946.
21. Ionescu, Stan, *Formation de l'antocyane dans les fleurs de Cobaea scadens aux dépens des glucosides préexistants*, C. R. Ac. Sc., CLXXIII, 1921.
22. Ionescu, Stan, *Transformation d'un chromogène des fleurs jaunes de Medicago falcata, sous l'action d'une oxydase*, C. R. Ac. Sc., CLXXV, 1922.
23. Ionescu, M. V., Ivănescu, M., Ferando, M., *Chimia analitică aplicată la agricultură. II. Chimia analitică organică şi biologică*, Institutul agronomic „N. Bălcescu" — Bucureşti, catedra de chimie, 1959.
24. König, J., *Die Untersuchung landwirtschaftlich wichtiger Stoffe*. Berlin, 1923.
25. Linskens, H. F., *Papierchromatographie in der Botanik*, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer—Verlag, 1959.
26. Mágocsy—Dietz, S., *A növények táplálkozása*, Budapest, 1909.
27. Maisurian, N. A., *Lucrări de laborator la fitotehnie*, Bucureşti, Editura agrosilvică, 1955.
28. Maximov, N. A., *Fiziologia plantelor*, Bucureşti, 1951.
29. Manta, I., Ciplea, M., *Metodele laboratorului clinic*, Cluj, 1947.
30. Moisescu, N., *Fiziologia vegetală experimentală*, Bucureşti, 1907.
31. Molisch, H., *Microchemie der Pflanze*, Jena, 1913.
32. Molisch, H., *A növényélettan, mint a kertészet elmélete*, Budapest, 1926.
33. Molisch, H., *Botanische Versuche ohne Apparate*, Jena, 1931.
34. Nenițescu, D. C., *Tratat elementar de chimie organică*, vol. I—II, Bucureşti, 1956—1958.
35. Onslow, M. W., *Practical Plant Biochemistry*, Cambridge, 1929.
36. Paech, K., Simonis, W., *Übungen für Stoffwechselphysiologie der Pflanzen*, Berlin—Göttingen—Heidelberg, 1952.
37. Paech, K., Tracey, M. V., *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Vol. I—IV, Berlin—Göttingen—Heidelberg, 1955—1956.
38. Peterburski, A. V., *Manual de lucrări practice la chimia agricolă*, Bucureşti, 1954.

Scanned with OKEN Scanner

39. Péterfi, I., *A növények növekedésének és fejlődésének élettani alapjai*, Bucureşti, 1954.
40. Péterfi, I., *A növények táplálkozása*, Bucureşti, 1956.
41. Pop, E., Sălăgeanu, N., Péterfi, Şt., Chirilei, H., *Manual de fiziologia plantelor*, vol. I—II., Bucureşti, 1957—1960.
42. Ruhland, W., *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, vol. VI, VII, VIII, Berlin—Göttingen—Heidelberg, 1958.
43. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., Krasnoselskaia, G. A., *Prakticeskie zaniatia po fiziologhii rastenii*, Moskva, 1948.
44. Soru, E., *Biochimie medicală*, vol. I, Bucureşti, 1959.
45. Stănescu, P. P,. *Les variations quantitatives des produits de la photosynthèse dans les feuilles des plantes vertes pendant un jour (vingt-quatre heures)*, Annales Scientifiques de l'Université de Jassy, Tome XIV., Fascicules 3—4, 1927.
46. Stocker, O., *Pflanzenphysiologische Übungen*, Jena, 1942.
47. Szalai, I., Frenyó, V., *Növényélettani kisérletek*, Budapest, 1962.
48. Szeberényi, P., *Gyorsított cukormeghatározás sűritett mustokban*. Magyar kémiai Folyóirat, Budapest, 1951, Nr. 2.
49. Teodorescо, E. C., Popesco, C. T., *Sur le tissu libérien et son rôle dans la circulation des substances organiques chez les végétaux supérieurs*, Annales scientifiques de l'Université de Jassy, T. IX., 1915.
50. Tetiurev, V. A., *Metodica experienţelor la fiziologia plantelor*, Bucureşti, Editura de stat didactică şi pedagogică, 1953.
51. Thomas, P., *Manuel de Biochimie*, Paris, 1936.
52. Vuk, M., Sándor, Z., Vas, K., *Élelmiszerek és élvezeti cikkek vizsgálata*, Budapest, 1943.
53. Wehmer, C., *Die Pflanzenstoffe*, Jena, 1929.
54. Zapromiotov, M. N., (redactor), *Biohimiceski metodi analiza rastenii*, Moskva, 1960 (traducere din K. Paech und M. V. Tracey: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, vol. I—IV).
55. Zbarskii, B. I., Zbarszkii, I. B., Szolncev, A. I., *Biokémiai gyakorlatok*, Budapest, 1950.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL VII

RESPIRAȚIA ȘI FERMENTAȚIILE

de lector NICOLAE POPOVICI

În urma procesului de fotosinteză, plantele acumulează mari cantități de substanțe organice, care reprezintă rezerva de energie. Prin descompuneri oxidative, această energie se eliberează conform schemei:

$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 674$ calorii mari, fiind folosită în procese de sinteză, în creștere, mișcări.

Descompunerile oxidative ale substanțelor organice din corpul plantelor se efectuează cu ajutorul oxigenului din aer și, după cum reiese din schemă, în urma acestor procese se eliberează CO_2.

Procesele oxidative exotermice care eliberează energia necesară proceselor vitale ale plantelor constituie *respirația plantelor.* Respirația se manifestă și poate fi pusă în evidență ca schimb gazos, cu consum de oxigen și eliberare de CO_2 în atmosfera care înconjură plantele. Esența respirației însă este eliberarea prin oxidație a energiei acumulate sub formă chimică în combinațiile complexe de rezervă ale plantelor.

1. PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A PROCESULUI DE RESPIRAȚIE

Experiența nr. 189

METODA ATMOSFEREI CONFINATE

Fig. 128. Metoda atmosferei confinate.

a) Pe fundul unui vas bine închis cu gura largă (borcan de preparate anatomice, exsicator etc.) se pun plante sau organe lipsite de clorofilă: ciuperci, petale, rădăcini, tuberculi, semințe germinate. După un timp se constată că o lumînare aprinsă introdusă în vas se stinge. Este dovada că în urma respirației a scăzut procentul de oxigen și a crescut procentul de bioxid de carbon, care nu întreține arderea (fig. 128).

b) De la începutul experienței montate ca mai sus se pune în vas un pahărel cu o soluție de hidroxid de bariu, $Ba(OH)_2$ 7‰. După un timp, soluția de $Ba(OH)_2$ devine tulbure. Bioxidul de carbon eliberat prin respirație a reacționat cu hidratul conform ecuației: $Ba(OH)_2 + CO_2 = BaCO_3 + H_2O$. Carbonatul de bariu este insolubil și precipită.

Dacă se lucrează cu plante întregi care conțin clorofilă, trebuie în primul rînd să se împiedice procesul de

fotosinteză, care ca schimb de gaze este exact invers respirației. Aceasta se realizează ușor, învelind vasele cu hîrtie neagră sau punîndu-le la întuneric.

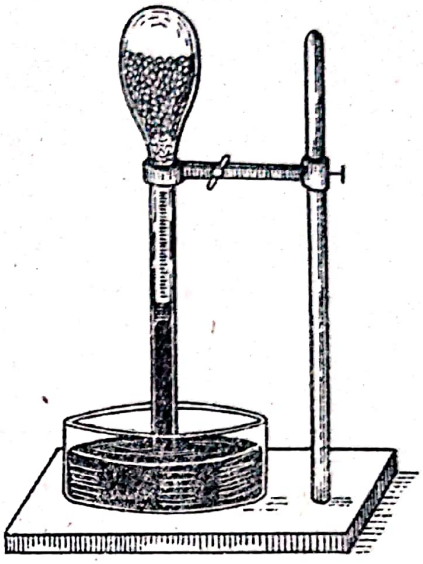


Fig. 129. Metoda eudiometrică.

Experiența nr. 190

METODA EUDIOMETRICĂ (METODA GARREAU)

Se ia un balonaș cu gîtul lung și nu prea larg, eventual gradat, denumit eudiometru. În partea lui lărgită, se introduc organe neasimilatoare de plante sau semințe pe cale de germinare. Pentru a opri căderea materialului respirator, cînd se întoarce balonul cu gîtul în jos, se pune și puțină vată pe traiectul gîtului. Eudiometrul se introduce cu gura în jos într-o cuvă cu mercur și cu ajutorul unei pipete curbate se introduce pe suprafața mercurului din gît o cantitate mică (1—2 ml) de hidrat de sodiu sau potasiu 20—30%. În urma procesului de respirație se consumă oxigen, iar bioxidul de carbon eliberat este fixat de hidroxid sub formă de carbonat de sodiu sau potasiu; ca urmare, presiunea din eudiometru scade. Mercurul se ridică prin gîtul eudiometrului în funcție de scăderea de presiune (fig. 129).

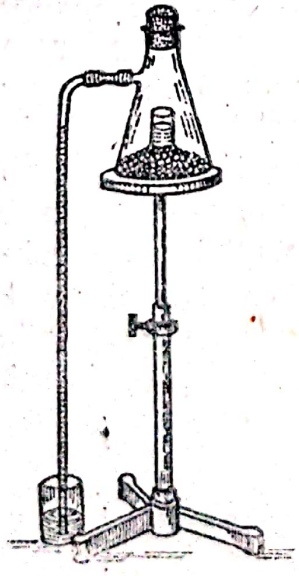


Fig. 130. Metoda Godlevski.

Experiența nr. 191

METODA GODLEVSKI

Într-un balon cu tubulură laterală se introduce material vegetal viu, care nu asimilează, de exemplu semințe pe cale de germinare, și un pahărel cu hidroxid de sodiu sau potasiu 20—30%. Cu ajutorul unei garnituri de cauciuc se atașează la tubulura laterală un tub subțire de sticlă, curbat la capătul de sus și care poate lua poziție verticală. Capătul de jos al acestui tub se introduce într-o cuvă cu apă colorată. Gura balonului se închide cu un dop de cauciuc. Materialul vegetal, respirînd, va consuma oxigen. Bioxidul de carbon rezultat va fi fixat de hidratul concentrat. Presiunea în balon scade, iar apa colorată va urca prin tubul vertical (fig. 130).

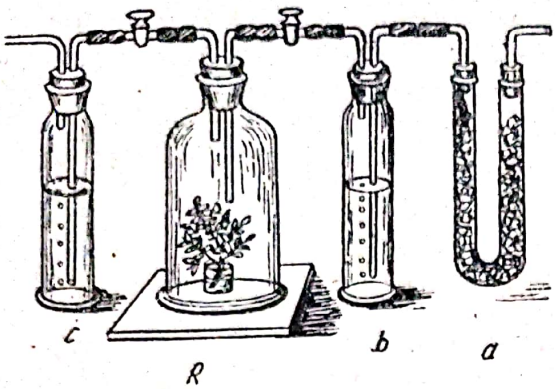


Fig. 131. Metoda Fleury.

Experienţa nr. 192

METODA FLEURY

Se montează o instalaţie ca în figura 131. În tubul în formă de U, notat cu *a*, se găseşte piatră ponce îmbibată cu soluţie de KOH 30% sau var sodat, pentru reţinerea completă a CO_2 din curentul de aer ce va trece prin dispozitiv. În vasul *b* se pune o soluţie de hidrat de bariu, care, prin faptul că nu se tulbură, ne dovedeşte lipsa de CO_2 în curentul de aer. Aerul complet purificat de CO_2 trece în recipientul *R*, unde se găseşte materialul vegetal viu pus să respire. Dacă materialul conţine clorofilă, se acoperă recipientul cu hîrtie neagră. Aerul din recipient încărcat cu CO_2 rezultat din respiraţie va trece mai departe în vasul spălător *c*, care conţine o soluţie de $Ba(OH)_2$, ce va fixa CO_2 sub formă de carbonat de bariu. Curentul continuu de aer se realizează ataşînd dispozitivul la o trompă de vid.

Experienţa nr. 193

METODA DECOLORĂRII INDIGOCARMINULUI

Ca material respirator se folosesc microorganisme fără clorofilă, de exemplu *Saccharomyces cerevisiae*. Într-un balon Erlenmeyer se pune pînă la refuz o soluţie 10% de zaharoză, slab colorată în albastru cu indigocarmin. Acest colorant în lipsă de oxigen se decolorează, iar în prezenţa oxigenului în soluţie se recolorează. În soluţie se pune o cantitate mică de drojdie de bere şi se astupă balonul cu un dop de cauciuc. Ciuperca *Saccharomyces cerevisiae*, fiind facultativ anaerobă, va consuma tot oxigenul din soluţie, apoi va lua oxigen şi de la indigocarmin, care se va decolora. Rezultatul se vede după cîteva zile, cînd soluţia începe să se decoloreze de jos în sus. Dacă se varsă soluţia din balon, indigocarminul fixează oxigenul din aer şi se recolorează.

2. STUDIUL CANTITATIV AL INTENSITĂŢII RESPIRAŢIEI

În mod curent, intensitatea respiraţiei plantelor se exprimă în unităţi de volum de CO_2 eliberat sau de O_2 absorbit pe unitatea de greutate de material vegetal uscat sau proaspăt în unitatea de timp.

Experiența nr. 194

METODA FIXĂRII CO_2 DIN CURENT DE AER (METODA PETTENKOFFER)

Se folosește o instalație ca în figura 132, *A*, denumită aparat Pettenkoffer, în care curentul de aer se realizează prin legarea întregii instalații la o trompă de vid. Vasele *a* sînt vase spălătoare și servesc la purificarea aerului de CO_2 cu ajutorul unei soluții foarte concentrate de KOH sau NaOH (20—30%). În tuburile în formă de U notate cu *b* se pune materialul vegetal a cărui intensitate de respirație trebuie aflată. Se pot folosi recipiente de forme diferite, după materialul cercetat. Acestea sînt legate prin tuburi de cauciuc atît de vasele spălătoare cît și de tuburile de absorbție care urmează. Pe traiectul tuburilor de cauciuc sînt cleme cu care se poate întrerupe curentul de aer la nevoie. Tuburile de absorbție sînt tuburi de sticlă lungi de circa 1 m, cu diametrul de 1,5 cm, care la unul din capete sînt curbate, așa cum arată figura 132, *B*. Acestea se așază pe un stativ comun de lemn, în așa fel ca ambele capete să fie la același nivel. La ambele capete, tuburile de absorbție au dopuri de cauciuc perforate, străbătute de segmente de tub de sticlă subțiri, care depășesc capetele dopului cu 2—3 cm. La capătul exterior al dopului ce astupă ramul scurt se face racordul cu tuburile în formă de U cu material vegetal. Se racordează două tuburi la un vas cu material. La capătul interior se montează un tub de cauciuc care trebuie să depășească curbura tubului de absorbție și care poartă la capăt o mică doză, confecționată dintr-un tub scurt de sticlă. Aceasta cu un capăt intră în tubul de cauciuc, iar la capătul liber este îngustată

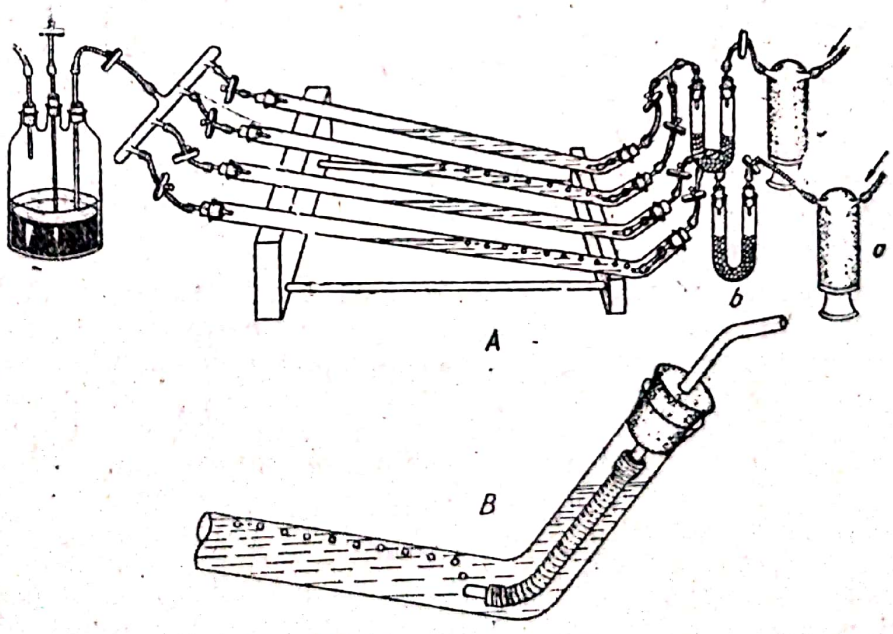


Fig. 132. Metoda Pettenkoffer:
A — aparatul Pettenkoffer; *B* — tubul de absorbție: *a* — vas spălător; *b* — recipient cu plante.

atît ca bulele de gaz ce vor ieși să nu depășească diametrul de 1 mm (diametrul vîrfului dozei este de aproximativ 0,2—0,3 mm). Celălalt capăt al tuburilor de absorbție se astupă cu cîte un dop de cauciuc prin care trece un tub subțire de sticlă, de care se atașează tuburi de cauciuc de diametru corespunzător, prevăzute de asemenea cu cleme și care conduc la un tub de tiraj comun, denumit pieptene. Pieptenele, prin intermediul unui regulator de presiune ca cel din figură, se pune în legătură cu trompa de vid.

Modul de lucru. Se pun cantități delimitate de material vegetal de cercetat (semințe germinate etc.) în tuburile în formă de U. Se fac toate legăturile instalației, lăsînd clemele de pe tuburile de cauciuc deschise. Se deschide trompa de vid și se creează un curent de aer prin toată instalația, pentru a înlocui aerul care conține CO_2 cu aer purificat (operația durează 10 minute). Se oprește trompa de vid, apoi se închid toate clemele. Se scot rînd pe rînd dopurile de la capetele dinspre pieptene ale tuburilor de absorbție, introducîndu-se în fiecare tub cîte 100 ml $Ba(OH)_2$ 7‰. Se pun dopurile imediat și se parafinează toate legăturile între sticlă și cauciuc, dar mai cu seamă dopurile. Se deschide din nou trompa de vid. În regulator se înregistrează scăderea de presiune. Se deschid apoi clemele în următoarea ordine strictă. Întîi cele de la pieptene. Dacă instalația este bine etanșată, nici o bulă de gaz nu va parcurge hidratul de bariu din tuburile de absorbție; apoi se deschid clemele de lîngă vasele spălătoare; în sfîrșit și cu multă precauție se deschid clemele dintre tuburile în formă de U cu material vegetal și tuburile de absorbție. Cu această ocazie se reglează debitul de aer prin tuburi. S-a arătat că diametrul bulelor nu trebuie să depășească 1 mm. Numărul bulelor trebuie să fie de una pe secundă. Acestea se reglează prin deschiderea și închiderea clemelor.

Aparatul, o dată reglat în modul descris, se lasă să funcționeze timp de 1 oră, supraveghind mereu și corectînd eventualele dereglări.

În momentul cînd s-a pus în funcțiune aparatul, se iau 20 ml din soluția de hidrat de bariu cu care s-au umplut tuburile de absorbție și se titrează cu acid oxalic 2,8636‰, notîndu-se numărul de mililitri consumați (de exemplu 18,5).

După ce aparatul a funcționat timp de 1 oră, se închid trompa de vid și toate clemele. Pe rînd se scot dopurile de la fiecare tub de absorbție, se astupă capetele cu degetele, se balansează tubul într-o parte și cealaltă pentru a omogeniza soluția de $Ba(OH)_2$. Se varsă conținutul în cîte un flacon de 50—100 ml, care se poate închide perfect. Dacă se pierde o parte din soluție, nu are importanță. Este bine ca deasupra soluției să nu rămînă nici o bulă de aer. Flacoanele se etichetează, notîndu-se cantitatea și natura materialului vegetal la care s-a lucrat cu soluția respectivă.

Dozarea CO_2 fixat în hidratul de bariu se poate face și mai tîrziu, în modul următor: se iau 20 ml de soluție din flaconul închis și se titrează cu acid oxalic 2,8636‰, în prezența fenolftaleinei ca indicator. Titrarea se face în baloane Erlenmeyer închise, în care soluția de acid

se introduce printr-o mică perforație a dopului. 1 ml din soluția de acid oxalic amintită corespunde la 1 cm^3 CO_2 absorbit de soluția de hidrat de bariu. Deci, de data aceasta, la titrarea a 20 ml de hidrat de bariu se vor consuma mai puțini mililitri de acid oxalic, iar diferența este egală cu numărul de centimetri cubi de CO_2 fixat de cei 20 ml de hidrat de bariu. De exemplu se vor consuma numai 16,8 ml de acid oxalic. Numărul de centimetri cubi de CO_2 fixați de 20 ml de hidrat de bariu este $18,5 - 16,8 = 1,7$ cm^3. Acest rezultat trebuie înmulțit cu 5, deoarece în tubul de absorbție s-au luat 100 ml de hidrat de bariu, care au absorbit egal bioxidul de carbon, adică $1,7 \times 5 = 8,5$ cm^3. Valorile obținute în cele două tuburi la care s-a racordat o probă se adună. Ținînd seama de cantitatea de material luată în experiență, se fac calcule pentru a exprima intensitatea respirației în unitățile alese, de exemplu în cm^3 CO_2/1 g material proaspăt/h. Dacă trebuie să se exprime intensitatea respirației la unități de greutate de material uscat, se va scoate materialul cercetat din tuburile în formă de U și i se va afla greutatea uscată, care se introduce în calcule.

Se poate compara la lucrări intensitatea respirației unor semințe germinate de diferite specii sau ținute la diferite temperaturi etc.

Experiența nr. 195

METODA ABSORBȚIEI CO_2 DIN ATMOSFERĂ CONFINATĂ (METODA BOYSEN-JENSEN)

Se folosesc două borcane de circa 300 ml, închise cu dopuri de cauciuc cu o perforație, prin care, cu o pipetă sau direct de la o biuretă, se introduc 20 ml $Ba(OH)_2$ 7‰. Perforațiile dopurilor se astupă cu baghete de sticlă scurte. Primul borcan servește de control. În al doilea, printr-un sistem oarecare (cîrlig fixat în dop sau o ață care trece printre dop și gura borcanului), se suspendă un coșuleț din rețea metalică, conținînd o cantitate delimitată de material vegetal de cercetat (fig. 133). Dacă materialul are clorofilă, borcanul se învelește în hîrtie neagră. Se lasă o oră în repaus, în care timp borcanele se clatină periodic pentru a sparge crusta de $BaCO_3$ formată prin fixarea CO_2. Titrarea se face cu soluție de acid oxalic 2,8636‰, din care 1 ml corespunde la 1 cm^3 CO_2 fixat de hidratul de bariu. Dacă la titrarea controlului se consumă de exemplu 18,5 ml de acid oxalic, iar în borcanul în care a respirat materialul cercetat numai 16,8 ml, cantitatea de CO_2 emis de materialul luat în experiență va fi dife-

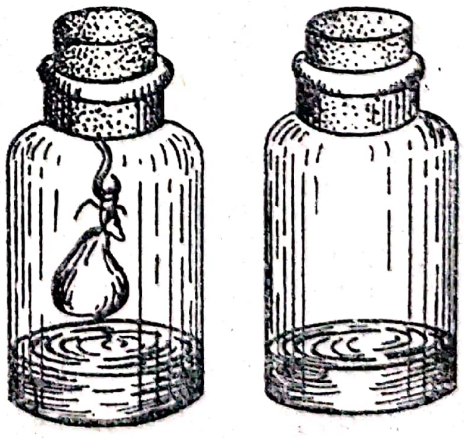


Fig. 133. Metoda Boysen — Jensen

rența între proba de control și cea de experiență, adică 18,5—16,8 = = 1,7 cm^3. Presupunînd că s-au luat în experiență 6,82 g de material proaspăt și intensitatea respirației trebuie exprimată în cm^3 CO_2/g material proaspăt/h, se fac următoarele calcule:

6,82 g . . . . . 1,7 cm^3 CO_2
1 g x

$$x = \frac{1,7 \times 1}{6,82} = 0,249 \text{ cm}^3 \text{ CO}_2\text{/g material proaspăt/h}$$

Experiența nr. 196

DETERMINAREA INTENSITĂȚII RESPIRAȚIEI PLANTELOR ACVATICE PRIN METODA WINKLER

Intensitatea respirației plantelor acvatice se poate măsura prin metoda Winkler. Dozarea oxigenului se face ca și în cazul măsurării asimilației clorofiliene (v. experiența nr. 136). Pentru a evita fenomenul de asimilație clorofiliană, sticlele în care se execută experiența se țin la întuneric, învelite într-o hîrtie neagră sau așezate într-un dulap. Întrucît fenomenul de respirație, ca schimb gazos, este invers fenomenului de asimilație clorofiliană, la dozarea oxigenului din sticla în care au stat plantele se va găsi o cantitate mai mică decît în sticla fără plante. Diferența între cele două dozări ne va da cantitatea de oxigen consumată prin respirație de către plantele luate în experiență.

Experiența nr. 197

DETERMINAREA INTENSITĂȚII RESPIRAȚIEI DUPĂ VOLUMUL DE O_2 CONSUMAT

Principiul metodei constă în fixarea totală a CO_2 eliminat, cu ajutorul unei soluții concentrate de KOH sau NaOH. În acest caz, volumul de oxigen consumat va face să scadă presiunea în vasul cu materialul care respiră. Aceasta se poate pune în evidență printr-o metodă manometrică sau gazometrică, așa cum se întîmplă în experiențele Garreau și Godlevski. Cunoscînd volumul vasului, al semințelor introduse, densitatea lichidului, care prin urcare ne indică scăderea de presiune, și înălțimea ridicării coloanei de lichid, se poate calcula volumul de oxigen consumat. Toate aceste calcule pot fi ușor înlăturate dacă se aduce la nivelul coloanei de lichid ce s-a ridicat o altă coloană comunicantă din același lichid. Scăderea de presiune va fi anulată și citirea va deveni volumetrică. Dacă la experiența Godlevski, în locul cuvei cu apă colorată, se atașează la tubul vertical un tub de cauciuc cu un rezervor cu apă, ca la calcimetrul Bernard (v. fig. 81), și se aduc

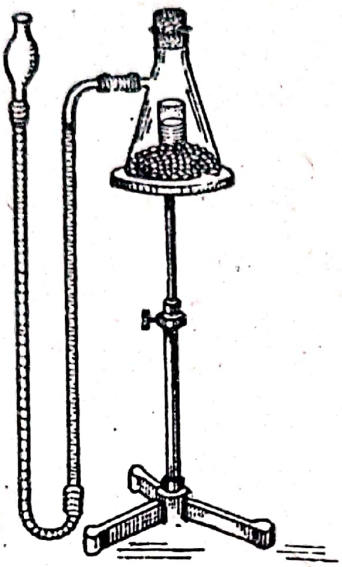


Fig. 134. Metoda Godlevski modificată pentru măsurarea oxigenului consumat în respirație.

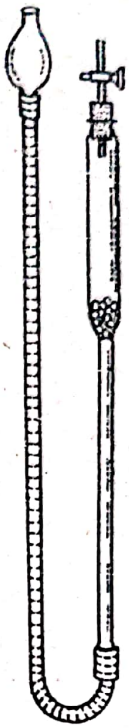


Fig. 135. Dozarea oxigenului consumat în respirație cu un dispozitiv volumetric.

nivelurile lichidelor la aceeași înălțime, cunoscînd secțiunea tubului și înmulțind-o cu ridicarea coloanei în centimetri, aflăm, în centimetri cubi, consumul de oxigen (fig. 134).

Se poate folosi o altă instalație, mai simplă, cu care se lucrează cu cantități mai mici de material. Se fixează la un stativ un osmometru cu partea mai largă în sus. La partea de jos, îngustă, se atașează un tub de cauciuc cu un rezervor de sticlă plin cu KOH 30%, așa cum indică figura 135. În partea lărgită se pune materialul vegetal de cercetat, și, dacă materialul conține clorofilă, se acoperă cu hîrtie neagră. De dopul de cauciuc care astupă etanș gura osmometrului se suspendă deasupra materialului o eprubetă mică cu 1—2 ml KOH 30%. În eprubetă se mai poate pune o hîrtie de filtru pliată, care, ieșind în atmosfera din osmometru, îi mărește suprafața de contact cu hidratul, favorizînd fixarea CO_2. Se pornește de la un nivel oarecare *a*, din partea de jos a osmometrului, cînd înălțimea lichidului, atît în tubul osmometrului cît și în rezervor, este aceeași. Se înseamnă acest nivel cu o trăsătură de tuș sau cu o hîrtie gumată. Se lasă dispozitivul în repaus timp de 30 sau 60 minute. Se va observa că nivelul soluției de KOH din tubul osmometrului va crește. Se ridică rezervorul cu KOH pînă ce lichidul ajunge din nou la același nivel. Se înseamnă acest nivel *b* cu tuș sau

hîrtie gumată. Volumul cuprins în tubul osmometrului între cele două semne este tocmai volumul de oxigen consumat de către cantitatea de material introdusă în dispozitiv în timpul cît s-a urmărit experiența. Acest volum se poate afla în două moduri. Se măsoară raza tubului și se află suprafața de secțiune πr^2, apoi se înmulțește cu diferența de nivel, în centimetri. Rezultă volumul de O_2 consumat, în centimetri cubi. Se mai poate proceda și astfel: se demontează instalația, și se golește de semințe. Osmometrul se astupă cu un dop de cauciuc la capătul de jos, apoi se umple cu apă pînă la unul din semne. Dintr-o biuretă se toarnă apă pînă la semnul următor. Pe biuretă ce citește numărul de centimetri cubi de oxigen consumat. Dacă s-au luat în lucru, de exemplu, 2,3 g de material vegetal, care în timp de 1 oră au consumat 1,25 cm^3 O_2, se face următorul calcul, pentru a exprima intensitatea respirației în cm^3 O_2/g/h:

2,3 g . . . . . 1,25 cm^3
1 g x

$$x = \frac{1{,}25 \times 1}{2{,}3} = 0{,}54 \text{ cm}^3 \text{ O}_2\text{/g/h}$$

Experiența nr. 198

DETERMINAREA INTENSITĂȚII RESPIRAȚIEI CU AJUTORUL APARATULUI WARBURG (METODA MANOMETRICĂ)

În aparatul Warburg, cantitatea de gaze absorbite sau degajate se măsoară manometric, adică introducînd în calcule diferența de presiune realizată prin absorbția unei cantități de gaz, avînd în vedere volumul vasului de reacție, volumele de material de cercetat și de reactivi introduși în vas, temperatura la care se lucrează și înălțimea coloanei de lichid care echilibrează presiunea atmosferică (P_o). La mercur, această înălțime este de 760 mm, la apă de 10 330 mm, la lichidul Brodie de 10 000 mm etc. Cu aceste date se calculează constanta garniturii vas-manometru (v. anexa I). Înmulțind constanta cu diferența de presiune, în milimetri, se află volumul de gaz absorbit.

Într-un vas calibrat se pune o cantitate mică de material vegetal, cîntărit cu exactitate (0,5—0,8 g), în jurul păhărelului din centrul vasului. În păhărelul central se introduc 0,3 ml KOH 30% și un fitil de hîrtie de filtru pliată pentru favorizarea absorbției CO_2. Se atașează vasúl la manometru, iar manometrul cu robinetul deschis la cadrul mobil. În acest moment, vasul intră în baia cu apă încălzită la temperatura de lucru. După 10 minute de echilibrare termică, se ridică lichidul manometric la marca dorită, care este bine să fie 250 mm, și se închide robinetul. După un timp de funcționare, de exemplu 30 minute, lichidul

Scanned with OKEN Scanner

manometric se denivelează, urcîndu-se în brațul care poartă vasul și coborînd în brațul opus. Se oprește aparatul. Cu ajutorul șurubului de reglare a lichidului manometric, se coboară ambele coloane de lichid, pînă ce pe brațul care poartă vasul se va atinge marca 250. Pe brațul opus, nivelul lichidului va coborî, de exemplu, la marca 181. Diferența h între nivelul inițial și cel final (250—181) reprezintă, în milimetri lichid manometric, scăderea de presiune corespunzătoare volumului de oxigen consumat din vas de către materialul vegetal luat în studiu. Se scoate manometrul de la cadru, se detașează vasul, se scoate materialul vegetal și i se măsoară volumul. Dacă V = volumul vasului + al ramificației laterale care poartă vasul + volumul diviziunilor pînă la marcă (300—250) în ramura dinspre vas a manometrului = 24,18 cm^3, v = volumul materialului de cercetat (1 cm^3) + volumul de hidrat introdus (0,3 ml) = 1,30 cm^3 și se folosește lichid Brodie la care $P_o = 10\,000$, iar determinarea s-a făcut la 25°C, atunci constanta k a garniturii va fi:

$$k = \frac{(V-v)\,\frac{273}{T}}{10\,000} \text{ (v. anexa)}$$

Introducînd în formulă datele de mai sus, se obține:

$$k = \frac{(24{,}18-1{,}30)\frac{273}{T}}{10\,000} = \frac{(24{,}18-1{,}30)\frac{273}{273+25}}{10\,000} = \frac{23{,}15\frac{273}{298}}{10\,000} =$$

$$= \frac{23{,}15 \cdot 0{,}91}{10\,000} = \frac{21{,}07}{10\,000} = = 0{,}0021 \text{ cm}^3 \text{ sau } 2{,}10 \text{ mm}^3$$

$VO_2 = h \cdot k = (250-181) \times 2{,}10 = 69 \times 2{,}10 = 144{,}9$ mm^3 sau 0,144 cm^3.

Deci, cantitatea de material luată în experiență, de exemplu 0,51 g, a consumat în 30 minute 0,144 cm^3 O_2. Aplicînd o regulă de trei simplă, se poate exprima intensitatea respirației în unități de volum de O_2 pe unitatea de greutate de material vegetal și în unitățile de timp alese.

3. COEFICIENTUL RESPIRATOR

S-a arătat că în procesele de oxidare care constituie respirația se consumă oxigen și se elimină bioxid de carbon. Raportul între volumul de CO_2 eliberat și O_2 consumat se numește *coeficient respirator*. Valoarea acestuia depinde de substanțele care se consumă în respirație. În cazul consumului de glucide, coeficientul respirator $\frac{CO_2}{O_2}$ este 1. Aceasta reiese din schema generală a oxidării glucidelor: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 = 6CO_2 + 6H_2O + 674$ calorii. În cazul de față, $\frac{CO_2}{O_2} = \frac{6}{6} = 1$. În cazul consumului de acizi organici, bogați în oxigen, schema oxidării este:

$$2\begin{matrix}\text{COOH}\\|\\\text{COOH}\end{matrix} + O_2 = 4CO_2 + 2H_2O; \quad \frac{CO_2}{O_2} = \frac{4}{1} = 4.$$

În cazul consumului de grăsimi, foarte sărace în oxigen, schema oxidării este:

$$2C_{18}H_{34}O_2 + 51O_2 = 36CO_2 + 34H_2O, \text{ adică } \frac{CO_2}{O_2} = \frac{36}{51} = 0{,}7.$$

Aşadar, după valoarea coeficientului respirator, ne putem da seama ce substrat se consumă cu precădere în respiraţie.

Experimental trebuie să aflăm atît volumul de oxigen consumat cît şi volumul de bioxid de carbon eliberat.

Experienţa nr. 199

DETERMINAREA COEFICIENTULUI RESPIRATOR CU APARATUL DETMER

Aparatul Detmer constă din 2 osmometre egale ca volum, montate la un suport comun cu partea largă în sus (fig. 136). Pe suport este fixat şi un termometru. La partea superioară, largă, osmometrele se astupă cu dopuri de cauciuc străbătute de tuburi de sticlă cu robinete, care servesc la echilibrarea presiunii interne cu cea externă în momentul punerii în funcţiune a aparatului. Capetele de jos, înguste, ale osmometrelor se introduc în cuve cu apă colorată. În unul din osmometre, notat cu *B*, se suspendă de dop, deasupra materialului, o mică eprubetă cu soluţie concentrată de KOH 20—30%, în care se poate pune un fitil de hîrtie de filtru pliată, pentru a mări contactul atmosferei interne cu KOH şi a favoriza absorbţia bioxidului de carbon.

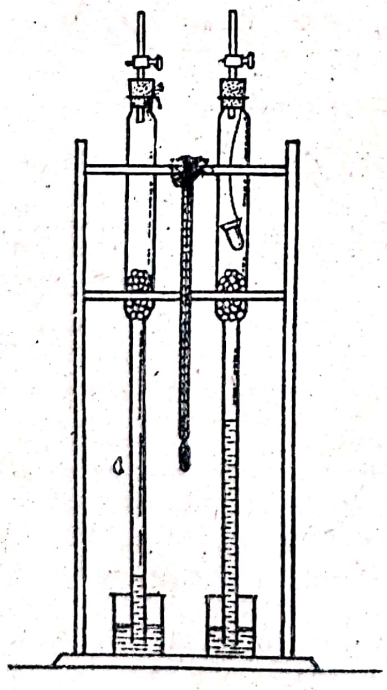


Fig. 136. Determinarea coeficientului respirator cu aparatul Detmer.

Dacă în ambele osmometre se pun cantităţi egale de material vegetal, care respiră, în osmometrul *B* cu KOH se va înregistra o scădere de presiune corespunzătoare cantităţii de O_2 consumat. În osmometrul *A*, fără KOH, scăderea de presiune va fi mai mică, deoarece CO_2 eliberat nu este fixat şi se va găsi în volumul gazos din osmometru. Scăderea de presiune va fi dată numai de diferenţa între O_2 consumat şi CO_2 eliberat. Dacă osmometrele au volume egale, ne putem baza pe proporţionalitatea între volumele de gaz absorbit şi înălţimile coloanelor de lichid. Raportînd înălţimile acestor coloane, se obţine valoarea coeficientului respirator, ca şi cum s-ar fi raportat volumele de gaz.

Cu aparatul Detmer se pot executa experienţe în care să se pună în evidenţă deosebirea între coeficienţii respiratori ai seminţelor cu rezerve nutritive de diferite naturi: hidrocarbonată, grasă etc.

a) *Determinarea coeficientului respirator la seminţe cu rezervă amidonoasă.* Se pun în

ambele osmometre ale aparatului Detmer cantități egale de semințe de grîu sau orz, germinate. După un timp, se va constata că în osmometrul *B*, cu KOH, se va ridica o coloană de lichid de o oarecare înălțime, în timp ce în osmometrul *A*, fără KOH, lichidul nu se va ridica de loc. Explicația acestui aspect se găsește chiar în schema generală a oxidării glucidelor, din care reiese că se emite aceeași cantitate de CO_2 cît oxigen se consumă. Deci nu se poate constata nici o scădere de presiune în osmometrul *A*, căci CO_2 înlocuiește volumetric O_2 consumat. Calculul se face în felul următor: În *B*, coloana de lichid s-a ridicat, de exemplu, la 11 cm. În *A*, avînd aceeași cantitate de semințe, s-a consumat aceeași cantitate de O_2, respectiv 11 cm, dar eliberîndu-se CO_2; diferența între ridicarea în *B* și cea din *A* ne va da cantitatea de CO_2 emis. În cazul nostru, ridicarea în *A* fiind O, diferența este 11 — O = 11. Coeficientul respirator $QR = \frac{CO_2}{O_2} = \frac{B-A}{B} = \frac{11-O}{11} = 1$. Deci coeficientul respirator la semințe cu rezervă amidonoasă, în cazul consumării de glucide în respirație, este egal cu 1, ceea ce reiese și din ecuația generală a oxidării glucidelor.

b) *Determinarea coeficientului respirator la semințe cu rezervă grasă.* Se pun în osmometrele aparatului Detmer cantități egale (5—10 g) de semințe de cînepă germinate, care au rezervă grasă. După un timp, se vor constata următoarele rezultate: dacă în *B* coloana de lichid se urcă, de exemplu, la 13,5 cm, în *A*, unde scăderea de presiune este dată de diferența între oxigenul consumat și CO_2 eliberat, ridicarea este de aproximativ 4,1 cm. Aplicînd relația de mai sus, avem: $QR = \frac{CO_2}{O_2} = \frac{B-A}{B} = \frac{13,5-4,1}{13,5} = \frac{9,4}{13,5} = 0,7$. Așadar, coeficientul respirator la semințele cu rezervă grasă, stabilit experimental, este 0,7, ceea ce coincide cu cifra obținută în mod teoretic din schema generală a oxidării grăsimilor.

Aparatul Detmer prezintă însă incertitudinea egalității de volum. Or, scăderea de presiune, care duce la ridicarea coloanei de lichid prin tubul îngust al osmometrului, depinde și de volumul rămas liber în osmometru după introducerea materialului, eprubetei cu KOH și a dopului. În două osmometre, în care volumele de aer libere nu sînt egale și în care s-a introdus aceeași cantitate de material vegetal ce consumă exact aceeași cantitate de oxigen, scăderile de presiune sînt de asemenea inegale, ca și ridicările coloanelor de lichid. Pentru a înlătura această sursă de erori, este bine să se înlocuiască cuvele cu un furtun cu rezervor pentru echilibrarea coloanei de lichid ce se urcă. Cu această ocazie, așa cum s-a arătat la măsurarea intensității respirației (v. experiența nr. 197), diferențele de presiune se anulează, și citirile devin volumetrice. Dacă tuburile înguste ale osmometrelor sînt gradate, citirea este și mai simplă. Dacă instalația este modificată astfel, se poate lucra și cu un singur osmometru. Se face întîi măsurarea diferenței de volum între CO_2 și O_2, ca în osmometrul *A*, apoi se readuce la zero nivelul

lichidului în tubul subțire, se introduce eprubeta cu KOH și se citește consumul de O_2. Înălțimile coloanelor pot fi raportate pentru aflarea coeficientului respirator, chiar fără a calcula volumele de gaze, în același timp fiind exclusă eroarea dată de inegalitatea de volum. Acest procedeu, pe lîngă dezavantajul că cere mai mult timp, oferă avantajul că se lucrează cu același material vegetal, a cărui greutate nu trebuie cunoscută. Este suficient că greutatea materialului în ambele probe este strict egală.

Experiența nr. 200

DETERMINAREA COEFICIENTULUI RESPIRATOR CU AJUTORUL INSTALAȚIEI WARBURG

Instalația Warburg, a cărei tehnică este descrisă în amănunțime în anexa I a acestui manual, prezintă avantajul unei mari sensibilități și precizii, pe lîngă posibilitatea de a lucra cu cantități minime de material. Procesul de lucru și calculele sînt la fel de simple ca și la instalațiile descrise pînă acum și vor fi însușite din anexă.

Pentru determinarea coeficientului respirator al unui material vegetal, se procedează astfel: Se pun 0,3—0,5 g de material vegetal, de exemplu semințe de cînepă germinate, în vasul de reacție, în jurul pahărelului din centru. Se atașează vasul la manometrul corespunzător cu robinetul deschis, iar manometrul la cadrul mobil, ca vasul de reacție să intre în baia termostat la temperatura dorită. Se pune în funcțiune aparatul, lăsînd 10 minute pentru echilibrare termică. Apoi se ridică lichidul manometric la marca aleasă, cel mai bine 150 mm, și se închide robinetul. După 15 minute, pe manometru se constată o denivelare. Coborînd lichidul manometric pe brațul cu vas pînă la 150, pe brațul opus se citește diferența de presiune, în milimetri lichid manometric, care corespunde diferenței între O_2 consumat și CO_2 eliberat, de exemplu 142,5 mm, adică diferența de presiune este 150—142,5 = 7,5 mm. Se oprește agitarea, se scoate vasul de pe manometru și se introduc în pahărelul din centru 0,2—0,3 ml KOH 30% și un fitil de hîrtie de filtru care, ieșind în vas, favorizează absorbția CO_2. Se continuă operațiile ca și în primul caz. Se va constata însă că, după un timp egal de funcționare a aparatului, denivelarea va fi mai mare, ajungîndu-se pînă la marca 125, adică diferența de presiune corespunzătoare consumului de oxigen va fi 25 mm. Notînd scăderea de presiune cînd se lucrează cu KOH cu B, iar cea cînd se lucrează fără KOH cu A, pentru calcularea coeficientului respirator se procedează ca și în experiența precedentă:

$$QR = \frac{B-A}{B} = \frac{25-7,5}{25} = \frac{17,5}{25} = 0,7.$$

După cum se vede, acesta este modul cel mai simplu de determinare a coeficientului respirator, întrucît nu implică calibrarea vasului, nici

calcularea constantei, nici cunoașterea cantității de material folosit. Mai trebuie precizat că introducerea a 0,3 ml de hidrat la a doua măsurătoare introduce o eroare neglijabilă, care reprezintă numai 2—3%. Pentru înlăturarea acestei erori, vasul trebuie calibrat, volumul materialului vegetal luat în lucru trebuie cunoscut și se calculează constanta sistemului pentru cazul *A*, cînd nu se folosește hidrat, și din nou pentru cazul *B*, cînd volumul hidratului se scade din volumul total, împreună cu volumul materialului. Se calculează volumele de gaz consumate în ambele cazuri și se introduc în calculele de mai sus. Și în acest caz, cunoașterea greutății materialului cercetat nu este necesară.

4. RESPIRAȚIA INTRAMOLECULARĂ

În lipsa oxigenului, plantele superioare nu-și întrerup activitatea vitală și continuă să elibereze CO_2. Fenomenul are importanță teoretică și practică, întrucît permite rezistența la asfixie a plantulelor tinere în timpul inundațiilor etc. Emisiunea de CO_2 în lipsa oxigenului molecular se numește respirație intramoleculară. Se admite că în aceste condiții se produce o oxidație internă, care are loc printr-o transpoziție a atomilor conform schemei:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CO_2 + 2C_2H_5OH + 24 \text{ calorii.}$$

După cum se vede, cantitatea de energie eliberată în această reacție, în comparație cu cea eliberată în prezența oxigenului (674 calorii), este prea mică pentru a întreține toate procesele vitale și, în cele din urmă, plantele mor. Pe lîngă aceasta, în respirația intramoleculară, anaerobă, se eliberează alcool etilic, cu o puternică acțiune toxică. Totuși, respirația intramoleculară, conform schemei de mai sus, este procesul fundamental care furnizează energie microorganismelor de tipul drojdiilor, care provoacă fermentația alcoolică.

Experiența nr. 201

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A RESPIRAȚIEI INTRAMOLECULARE LA PLANTELE SUPERIOARE

Se execută următoarea experiență simplă. Un tub de sticlă cu pereții groși, închis la unul din capete și lung de 30—40 cm, se umple cu mercur și se răstoarnă într-o cuvă cu mercur, în așa fel ca să nu intre aer. Prin capătul tubului cufundat în mercur se introduc cîteva semințe de fasole, mazăre, îmbibate cu apă, care se vor ridica imediat în partea de sus a tubului (fig. 137). În scurt timp, mercurul din tub începe să coboare ca urmare a emisiunii de CO_2 de către semințe.

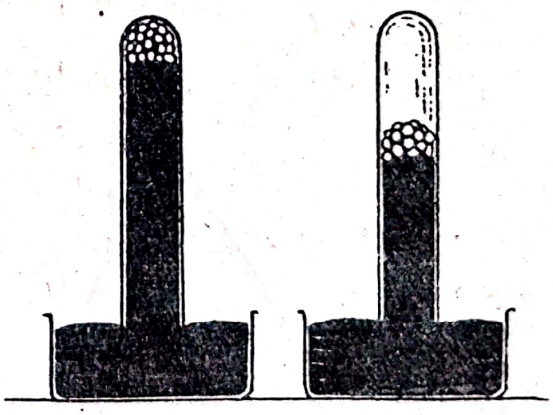


Fig. 137. Demonstrarea respirației intramoleculare.

Întrucît aerul lipseşte cu desăvîrşire, este evident că CO_2 s-a emis prin respiraţie intramoleculară, în lipsa oxigenului. Pentru a demonstra că s-a emis într-adevăr CO_2, se introduce prin gura tubului o pastilă de KOH umezită sau 1—2 ml KOH 30%. Se va constata urcarea rapidă a mercurului în tub, în urma fixării CO_2 de către KOH.

5. FERMENTAŢIILE

Experienţa nr. 202

FERMENTAŢIA ALCOOLICĂ

Procesul fermentaţiei alcoolice decurge după schema respiraţiei intramoleculare: $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2 + 24$ calorii. Cu toată cantitatea mică de energie eliberată în acest proces, el stă la baza metabolismului ciupercilor care provoacă fermentaţia alcoolică, printre care *Saccharomyces cerevisiae*.

În această experienţă, se vor pune în evidenţă produşii finali ai fermentaţiei, bioxidul de carbon şi alcoolul.

Se ia un balon de circa 100 ml şi se umple pe jumătate cu o soluţie 10% de zaharoză; se adaugă 10 ml dintr-o suspensie de drojdie de bere diluată cu aceeaşi soluţie de zaharoză (1 g de drojdie de bere în 10 ml de soluţie de zaharoză) cu 40—60 minute înainte de experienţă. Gura balonului se astupă cu un dop de cauciuc prin care trece un tub de sticlă îndoit de două ori în unghi ascuţit. Capătul extern al tubului se introduce într-un vas cu apă. O dată terminată montarea instalaţiei, procesul de fermentaţie începe. Pentru grăbirea ei, se menţine temperatura balonului la 30—35°C, improvizînd în jurul acestuia o baie de apă încălzită, sub un control termometric permanent. După 30—40 minute, CO_2 degajat prin fermentaţie dezlocuieşte tot aerul din balon, iar la capătul tubului începe să iasă un şir uniform de bule de gaz. Se aduce deasupra tubului din vasul cu apă o eprubetă răsturnată plină cu apă şi se colectează gazul (fig. 138). Pentru a dovedi că este CO_2, se pune în eprubetă o soluţie de hidroxid de bariu, care se tulbură în urma formării de $BaCO_3$. Se mai poate împlînta eprubeta cu gura în jos, într-o cuvă cu KOH 30%; soluţia se va ridica în eprubetă ca urmare a fixării CO_2 sub formă de K_2CO_3. Alcoolul se poate pune în evidenţă prin două reacţii caracteristice.

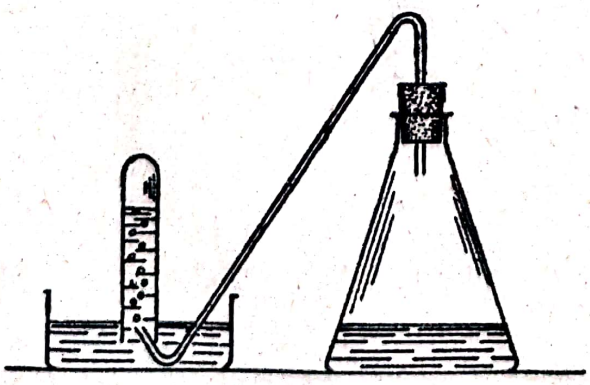
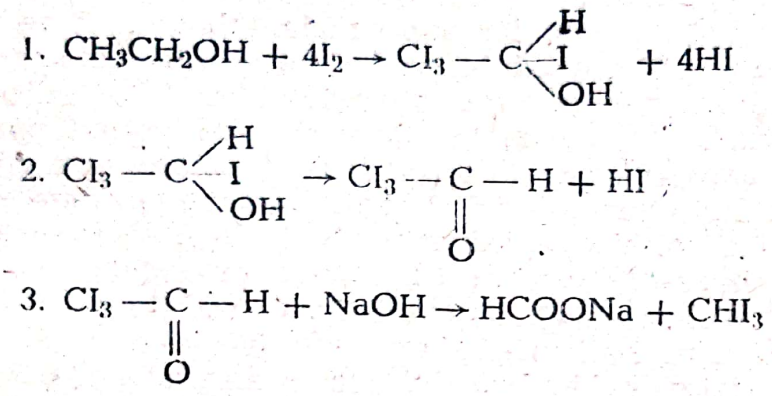


Fig. 138. Fermentaţia alcoolică.

Reacția iodoformului. Se lasă lichidul să fermenteze pînă a doua zi. Se adaugă puțin NaOH 10%, se încălzește la circa 60°C, apoi se aruncă în balon cîteva cristale de iod. În prezența alcoolului etilic se formează iodoform, conform reacției:



Iodoformul este un precipitat fin, galben, cu miros caracteristic.

Reacția cu bicromat de potasiu. În soluția fermentată se aruncă cîteva cristale de $K_2Cr_2O_7$ și se adaugă cîteva picături de H_2SO_4 concentrat. Apare o culoare verde, ca urmare a reducerii cromului. Se formează și anhidridă acetică, decelabilă după miros, conform reacției:

$$K_2Cr_2O_7 + 4H_2SO_4 + 3CH_3CH_2OH = K_2Cr_2(SO_4)_4 + 3CH_3CHO + 7H_2O$$

Analizînd în ambele părți ale ecuației combinațiile cu crom, se constată că acesta a trecut de la starea hexavalentă din bicromat în stare trivalentă, în sulfatul de crom și potasiu.

De asemenea, se poate distila alcoolul și se pune în evidență în distilat, prin aceleași reacții sau prin aprindere.

Experiența nr. 203

FERMENTAȚIA BUTIRICĂ

Este un fenomen exclusiv anaerob de degradare a substanțelor neazotate de către bacterii ca *Bacillus amylobacter, Clostridium pasteurianum* etc. Produsul de fermentație este acidul butiric, care se formează conform reacției:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow CH_3—CH_2—CH_2—COOH + 2CO_2 + 2H_2 + 20 \text{ calorii.}$$

Într-un balon Erlenmeyer, de circa 250 ml, se pun 5 g de malț ca sursă de nutriție minerală și azotată, 2 g $CaCO_3$ pentru neutralizarea acidului care se va forma și se toarnă pînă la ¾ din volumul lui o soluție 5% de zaharoză. Se amestecă bine și se încălzește la fierbere, amestecînd cu o baghetă. Apoi se umple balonul cu apă fierbinte și se continuă fierberea încă 5 minute. Prin fierbere se extrag din malț substanțele azotate nutritive, amidonul trece în stare coloidală, se creează condiții anaerobe

Scanned with OKEN Scanner

prin îndepărtarea completă a aerului și se îndepărtează toate microorganismele asporogene nerezistente. Forma conică a vasului favorizează menținerea condițiilor de anaerobioză. Pentru infestarea cu microorganisme care provoacă fermentația butirică, se aruncă în lichidul încă clocotind un bulgăraș de sol. În același moment se astupă balonul cu un dop de cauciuc cu tub colector, iar după răcirea balonului se va așeza și o baie cu o eprubetă întoarsă, plină cu apă, pentru colectarea gazelor ce vor rezulta din fermentație (ca în fig. 138). După 3—4 zile se pot face analizele de gaz. Se colectează gaz degajat în cel puțin 2 eprubete. De gura uneia se apropie un chibrit aprins. Se va observa o mică explozie, provocată de hidrogenul rezultat prin fermentație, care s-a aprins. În alta se pune o soluție de hidrat de bariu 7‰; se formează un precipitat de $BaCO_3$ în urma fixării de CO_2. Prezența acidului butiric se evidențiază prin mirosul neplăcut caracteristic. O reacție calitativă pentru evidențierea acidului butiric este trecerea lui în ester butil-etilic. Se iau cîțiva mililitri de lichid fermentat, la care se adaugă 0,5 ml de alcool etilic concentrat și 10 ml de acid sulfuric concentrat. Are loc următoarea reacție:

$$CH_3—CH_2—CH_2—COOH + C_2H_5OH = CH_3—CH_2—CH_2—COOC_2H_5 + H_2O$$

Esterul butil-etilic are de asemenea un miros caracteristic.

Fermentația butirică se poate provoca destul de ușor pe un mediu cu cartofi, în felul următor: se pun într-o eprubetă, pînă la $^1/_3$ din înălțimea ei, bucăți tăiate dintr-un tubercul de cartof. Se adaugă 0,5 g $CaCO_3$ și se umple cu apă. Se pasteurizează la 80°C timp de 15 minute. Se astupă eprubeta cu un dop de vată și se lasă în termostat la 30—35°C timp de cîteva zile, după care se va constata o fermentație butirică intensă. Din lichid se vor degaja bule de gaz care vor ridica bucățile de cartof la suprafață. În cazul de față, bacteriile butirice au hidrolizat amidonul pînă la zaharuri simple, iar pe acestea le-au supus fermentației butirice cu degajare de CO_2 și H_2 și formare de acid butiric. Un examen microscopic al lichidului de fermentație va pune în evidență prezența bacteriilor butirice, în special *Clostridium pasteurianum*. Este bine ca frotiul înainte de examinare la microscop să fie tratat cu Lugol (reactivul 64). Iodul va colora granuloza, substanța de rezervă a bacteriilor butirice. Cu această ocazie, sporii nu se colorează, devenind mai evidenți față de bacterii. Acidul butiric se poate pune în evidență în modul descris anterior. Într-un mod și mai simplu se poate realiza o fermentație butirică în felul următor: într-un balon Erlenmeyer se pun boabe nespălate de fasole sau mazăre și se toarnă apă, atît ca după imbibiție să mai rămînă deasupra boabelor un strat de apă de 2—3 cm. Se astupă balonul cu un dop de plută și se pune în termostat la 35°C. După 3—4 zile se observă o intensă fermentație butirică. Lichidul spumegă, iar boabele se dezagregă pînă ce se transformă într-o masă amorfă. În experiența de față, s-au realizat în mod simplu condițiile de dezvoltare a unei fermentații butirice: anaerobioza, prin stratul gros de apă, materialul fermentabil, prin amidonul din boabe, aportul de bacterii butirice, prin

Scanned with OKEN Scanner

testa nespălată a boabelor. Bacteriile butirice se pot pune în evidență printr-un examen microscopic al lichidului de fermentație. Produșii finali de fermentație se pot pune în evidență ca și în experiențele precedente.

Experiența nr. 204

FERMENTAȚIA ACETICĂ

Fermentația acetică este un proces aerob, provocat de bacteriile acetice. Acestea se aglomerează la suprafața lichidului de fermentație, sub formă de membrane. După aspectul acestor membrane și reacția lor cu Lugolul (reactivul 64) se pot determina speciile care au provocat fermentația. *Mycoderma vini* are membrana albă, mată, groasă, care se strînge în falduri; lucrează la temperaturi joase. La temperaturi mai ridicate, lucrează următoarele specii: *Bacterium aceti*, cu membrana netedă, mucilaginoasă, și *B. Ranceum*, care formează o membrană umedă. La ambele specii, membrana este lipită de pereții vasului și cu Lugolul se îngălbenește. *B. Pasteurianum* are membrana uscată și zbîrcită; *B. Kützigianum* are membrana netedă, mucilaginoasă. La aceste două specii, membrana se albăstrește la tratarea cu Lugol. *B. Xilinum* formează o membrană groasă, coriacee, mucilaginoasă, care dă reacția caracteristică celulozei: se albăstrește cu Lugol în prezența acidului sulfuric.

În fermentația acetică se consumă alcoolul în prezența oxigenului și rezultă acid acetic și apă, conform schemei:

$$CH_3—CH_2—OH + O_2 \rightarrow CH_3—COOH + H_2O + 117 \text{ calorii}$$

Pentru studierea practică a fermentației acetice, trebuie să se creeze condiții de aerobioză și să fie prezentă substanța fermentabilă. În mai multe baloane conice, cu fundul cît mai mare, se pune un strat de bere de cel mult 0,5 cm grosime, ca material nutritiv, și se adaugă zaharoză atît ca procentul final să fie 3—4%. Aceasta va folosi drept material fermentabil. În o jumătate din numărul baloanelor se adaugă și acid acetic, așa fel ca procentul final al lichidului să nu treacă de 0,6%. Baloanele acidulate și neacidulate se împart în cîte două grupe, din care una se pune la temperaturi scăzute (10—15°C), iar a doua în termostat la 25—30°C. Baloanele se astupă cu un dop de vată. Infestarea lichidului fermentabil cu bacterii acetice se face din aer, și fermentația acetică se dezvoltă atît pe baza alcoolului din bere cît mai ales pe baza alcoolului ce va rezulta din fermentarea zahărului adăugat inițial în lichid. În funcție de temperatura și aciditatea mediului, se vor dezvolta diferite specii de bacterii acetice, care se vor recunoaște după caracteristicile membranei ce se va forma la suprafața lichidului după 3—4 zile. Prezența acidului acetic se poate pune în evidență prin următoarea reacție caracteristică: se neutralizează lichidul cu o soluție de NaOH 0,1 *n* (reactivul 42) în prezența unei hîrtii de turnesol. Se adaugă o soluție de clorură ferică 1%. Va apărea o coloratie roșie, ca urmare

a formării unei combinații complexe (clorură triferidiol-hexacetică). Dacă se fierbe soluția astfel colorată, se obține un precipitat de acetat bazic de fier de culoare brună.

Experiența nr. 205

FERMENTAȚIA LACTICĂ

Fermentația lactică este un proces anaerob, datorit activității enzimatice a unor bacterii, ca: *Lactobacillus casei, L. bulgaricus, Streptococcus lactis* etc. Speciile enumerate provoacă fermentația laptelui, scindînd în primul rînd molecula de lactoză în glucoză și galactoză, apoi pe acestea în cîte 2 molecule de acid lactic, conform schemei:

$$\underset{\text{lactoză}}{C_{12}H_{22}O_{11}} \xrightarrow{+\,H_2O} \underset{\text{glucoză}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{galactoză}}{C_6H_{12}O_6}$$

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow \underset{\text{acid lactic}}{2CH_3—CHOH—COOH} + 22{,}5 \text{ calorii}$$

În prepararea murăturilor, zaharurile din materialele puse la murat suferă, de asemenea, o fermentație lactică, provocată în cazul verzei de *Bacterium brassicae*, iar în cazul castraveților, de *Bacterium cucumeris fermentati*.

În laborator este ușor de urmărit fermentația laptelui. Într-un balon Erlenmeyer se pune lapte pînă la $^2/_3$ din volumul lui, se astupă cu un dop de vată și se lasă în termostat la 20—25°C. Va decurge o fermentație lactică conform schemei menționate, din care rezultă acid lactic. Cazeina, care se găsește în lapte sub formă coloidală și combinată cu calciul, cedează acidului lactic calciul și formează un coagul în care se includ și celelalte albumine, globuline, sărurile, lactoza. Totodată, se separă un lichid de coagulare, zerul, care conține apă, o parte din săruri și din substanțele organice solubile, printre care acidul lactic. Lactoza din lapte, de obicei, nu fermentează complet, datorită faptului că acumularea de acid lactic inhibă activitatea bacteriilor lactice. Dacă se neutralizează acidul lactic, adăugînd în balon de la început $CaCO_3$, se formează lactat de calciu, care nu împiedică activitatea bacteriilor, și fermentația lactozei este completă. În acest caz se va observa o degajare de gaz, care însă nu rezultă din fermentație, ci este CO_2 degajat în urma reacției dintre $CaCO_3$ și acidul lactic.

Se poate face și un examen microscopic al bacteriilor lactice. Pentru aceasta, se înclină balonul cu laptele fermentat, și din zerul care se prelinge pe lîngă perete se ia cu o ansă o picătură mică, din care se face un frotiu pe o lamă. După ce s-a uscat frotiul la aer, se execută fixarea, turnînd pe lamă un amestec de alcool și eter în părți egale.

Scanned with OKEN Scanner

Fixatorul se ține pe lamă 1 minut. În acest timp, pe lîngă fixarea cu alcool, se petrece și degresarea preparatului prin eter, proces important, deoarece existența picăturilor de grăsime împiedică observarea microscopică. Colorarea microorganismelor se face cu albastru de metilen 1% sau fuxină Pfeiffer (reactivul 35). Cel mai frecvent apar *Streptococcus lactis* și *Bacterium bulgaricus*; uneori apare și *Oidium lactis*, ca celule mari, dreptunghiulare sau ovale (fig. 139).

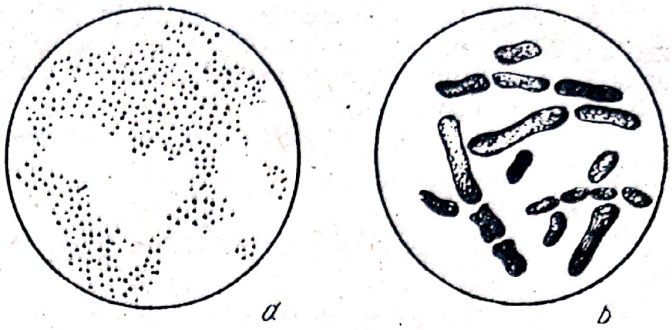


Fig. 139. Bacteriile lactice :
a — Streptococcus lactis ; b — Oidium lactis.

Acidul lactic, în fermentatele în care nu s-a pus $CaCO_3$, se pune în evidență prin următoarele reacții:

a) *Transformarea acidului lactic în aldehidă acetică.* Se scutură balonul cu laptele fermentat și din amestecul omogen obținut se fac circa 10 ml de filtrat. În acest filtrat se pune 1 ml H_2SO_4 10% (reactivul 8 *h*), se încălzește la fierbere și se adaugă cîteva picături de $KMnO_4$ 2%. Acidul lactic trece aproape total în aldehidă acetică, ce se poate pune ușor în evidență. Se astupă gura eprubetei cu o hîrtie de filtru îmbibată cu o soluție de azotat de argint amoniacal (reactivul 14). Încălzind eprubeta, aldehida acetică se evaporă și înnegrește hîrtia de filtru, deoarece se pune în evidență argintul metalic. Reacția este caracteristică aldehidelor și nu este altceva decît reacția Tollens folosită la punerea în evidență a aldozelor.

b) *Reacția cu tiofen.* Într-o eprubetă cu 1—2 ml de filtrat de lapte fermentat se adaugă 5 ml H_2SO_4 concentrat și 10 picături de $CuSO_4$, soluție saturată (reactivul 69 *a*). Se încălzește la baia marină 5 minute și după răcire se mai adaugă 0,5—1 ml de soluție alcoolică de tiofen 0,2%. În prezența acidului lactic se obține o culoare roșie. Reacția este sensibilă și specifică.

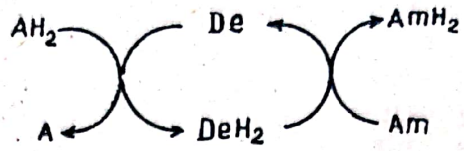
6. ENZIMELE DE RESPIRAȚIE

Experiența nr. 206

DEHIDRAZELE

Sînt fermenți care catalizează dehidrogenarea substanțelor oxidabile și transportul hidrogenului de la donator la diferiți acceptori. Schematic, reacția este următoarea: AH_2 + dehidrază + $B = BH_2 + A$, în care AH_2 este donatorul de hidrogen (substanța care se oxidează), iar B este acceptorul de hidrogen, substanța care se reduce. Dehidrazele se pot împărți în două categorii: *reductaze*, care transportă hidrogenul de la un donator la un acceptor specific, oricare în afară de oxigenul atmosferic, și *oxidaze*, care transportă hidrogenul de la un acceptor intermediar la oxigenul atmosferic.

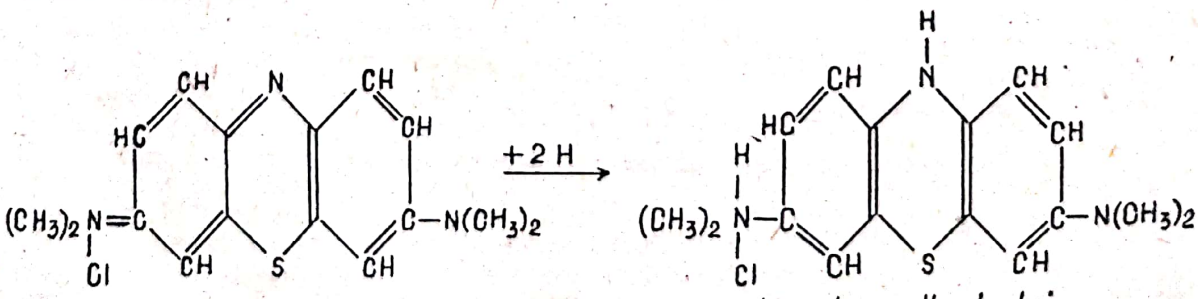
Reductazele. Experimental, existența reductazelor se pune în evidență în prezența albastrului de metilen *(Am)*, care este un acceptor de hidrogen și în stare redusă devine incolor. Reacția, schematic, are loc astfel:



Decolorarea albastrului de metilen este dovada prezenței reductazelor.

a) *Reductazele în frunzele de Elodea*. Se ia o ramură bătrînă de *Elodea canadensis*, care posedă un lăstar lateral tînăr, și se scufundă într-o soluție de albastru de metilen 0,05%. După o jumătate de oră se trece ramura în apă pentru a o spăla de colorant. Se montează pe o lamă în apă frunze de diferite vîrste de la ramurile care au stat în colorant și se privesc la microscop cu obiectivul mic. Se va observa că frunzele tinere nu sînt colorate de loc, cele bătrîne sînt colorate total, iar cele de vîrstă mijlocie se colorează numai la vîrf și cu atît mai mult cu cît vîrsta este mai înaintată. Rezultatul experienței dovedește că țesuturile tinere în care se petrec intense procese metabolice au și capacitatea reducătoare crescută. Așa sînt frunzele tinere și baza frunzelor de vîrstă mijlocie (se știe că la *Elodea* zona de creștere a frunzelor este situată bazal). Cu timpul, în țesuturile fără activitate vitală intensă, în care nu decurg procese de creștere, ca frunzele bătrîne și vîrful frunzelor de vîrstă mijlocie, conținutul de reductaze scade și totodată capacitatea reducătoare.

b) *Reductazele drojdiei de bere*. Se iau două eprubete în care se pune soluție diluată de albastru de metilen 0,1%. În prima eprubetă se pune drojdie de bere, cam cît un bob de mazăre, apoi se agită: soluția se decolorează, deoarece albastrul de metilen a fixat hidrogenul transportat de reductaze, trecînd în leucobaza sa. În a doua eprubetă se pune aceeași cantitate de drojdie de bere, dar nu se agită. După cîteva ore se va constata decolorarea soluției începînd de jos în sus. La suprafață, soluția se recolorează datorită contactului cu oxigenul atmosferic, căruia albastrul de metilen îi cedează hidrogenul cu care s-a redus, trecînd în forma oxidată, inițială, colorată. Reacțiile de reducere și oxidare ale albastrului de metilen sînt:



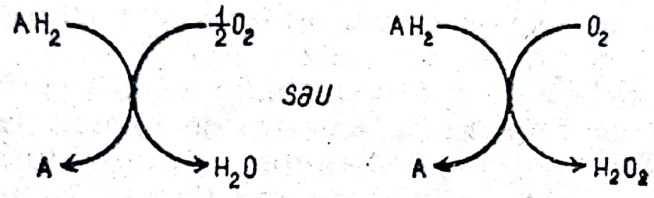
albastru de metilen, forma oxidată (colorată)

leucobaza albastrului de metilen (forma incoloră)

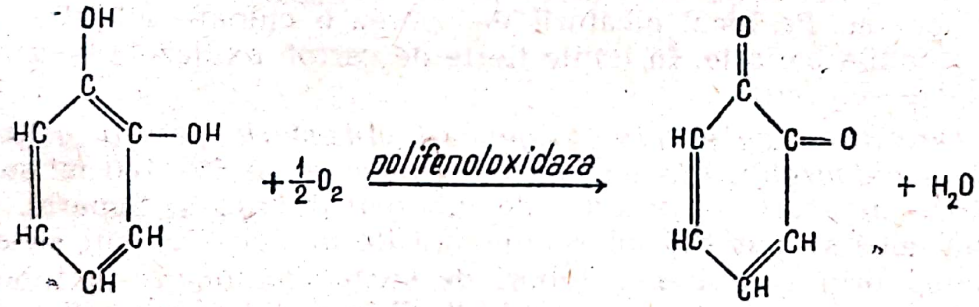
Experiența nr. 207

OXIDAZELE

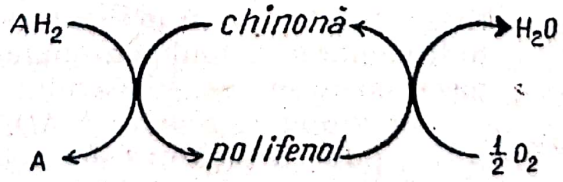
Sînt dehidraze aerobe, pentru care singurul acceptor al hidrogenului luat de la substrat este oxigenul molecular atmosferic. În urma acestei reacții se formează apă sau apă oxigenată, conform uneia din următoarele scheme:



Un exemplu concret de dehidrogenare prin oxidaze este oxidarea polifenolilor (pirocatehinei) la chinone prin intermediul polifenoloxidazei:



În acest proces se eliberează o importantă cantitate de energie, prin combinarea hidrogenului cu oxigenul, dar, pe de altă parte, chinona rezultată servește drept acceptor de hidrogen pentru oxidaze, cînd se regenerează polifenolul și se reia reacția de mai sus. Prin urmare, sistemul polifenol-chinonă dirijat de dehidraze și polifenoloxidaze este inelul de legătură între H_2 luat de la substrat și O_2 din aer, ceea ce stă la baza teoriei oxidărilor biologice a lui V. I. Palladin. Schematic, acest proces se poate reprezenta astfel:



Prin urmare, hidrogenul luat de la substrat de către dehidrază este dat chinonei, din care se formează polifenolul, care, la rîndul său, cedează acest hidrogen aerului sub influența oxidazei, regenerînd chinona. V. I. Palladin consideră polifenolii existenți în plante și care participă la respirație drept *cromogeni respiratori*, iar chinonele

rezultate din aceştia prin dehidrogenare, drept *pigmenţi respiratori*. În plante, un important cromogen respirator este acidul clorogenic, care se găseşte în mari cantităţi în seminţele pe cale de germinare.

Existenţa oxidazelor în materialele vegetale se poate pune în evidenţă în prezenţa acidului α-guaiaconic [$C_{22}H_{21}O_3(OH)_3$], care se găseşte în răşina de guaiac *(resina guajaci)* şi care prin dehidrogenare trece într-o formă redusă de culoare albastră. Reacţia nu are loc în lipsa oxigenului atmosferic.

a) *Evidenţierea oxidazelor în tuberculul de cartof.* Se curăţă un tubercul de cartof, se dă prin răzătoare, se adaugă 10—15 ml de apă distilată, se agită, apoi se filtrează. Se iau cîţiva mililitri de filtrat într-o eprubetă şi se adaugă cîteva picături de tinctură de guaiac (soluţie alcoolică 1% de răşină de guaiac). Apare imediat o coloraţie albastră intens, ca urmare a oxidării (dehidrogenării) acidului guaiaconic de către oxidaze, cu formare de albastru de guaiac. În altă eprubetă se iau cîţiva mililitri de filtrat şi se fierbe. Adăugînd tinctura de guaiac, nu apare coloraţia albastră, deoarece prin fierbere s-au distrus oxidazele. Se poate proceda identic şi cu alte materiale vegetale, de exemplu cu extras din mere, pere, prune.

Mai simplu se poate proceda astfel: se taie felii dintr-un tubercul de cartof din care o parte se fierb. Se pune pe fiecare felie cîte o picătură de guaiac. Pe locul picăturii va apărea o culoare albastră intens, numai la feliile nefierte. În feliile fierte de cartof, oxidazele s-au distrus şi nu apare coloraţia.

b) *Dovedirea necesităţii oxigenului atmosferic pentru activitatea normală a oxidazelor.* Într-un balon Erlenmeyer de 50—100 ml se pune o cantitate oarecare de răzătură de tubercul de cartof. Separat, într-o eprubetă mică se pun 0,5 ml de tinctură de guaiac. Balonul se astupă cu un dop prin care trec 2 tuburi de sticlă continuate cu tuburi de cauciuc cu cleme, aşa ca în figura 140. Prin tubul mai lung, se aduce de la un aparat Kipp un curent de CO_2 pînă ce tot aerul din balon se înlocuieşte, apoi se închid ambele cleme. Se clatină balonul pînă ce tinctura de guaiac din eprubetă se varsă peste răzătura de cartof. Nu apare nici o coloraţie, deoarece lipseşte oxigenul atmosferic. Dacă, deschizînd clemele, se creează un curent de aer, la suprafaţa amestecului de cartof şi tinctură de guaiac apare imediat coloraţia albastră caracteristică, deoarece în prezenţa aerului decurge dehidrogenarea acidului α-guaiaconic de către oxidaze, cu formarea albastrului de guaiac.

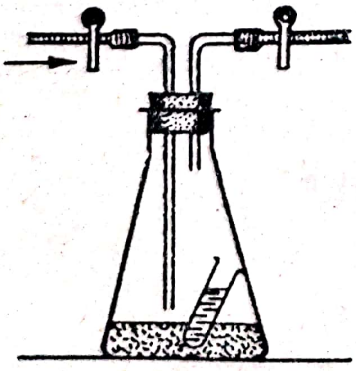
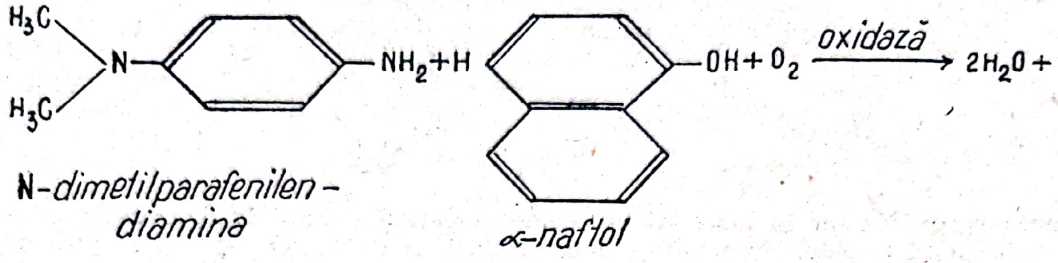


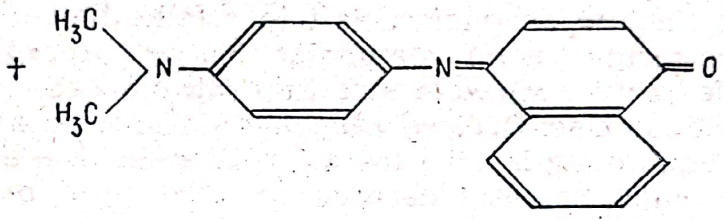
Fig. 140. Dovedirea necesităţii oxigenului atmosferic pentru activitatea normală a oxidazelor.

c) *Proba cu reactiv NADI.* Pe o felie de cartof se pune o picătură de reactiv NADI (soluţie alcalină de α-naftol şi N-dimetilparafenilendiamină; reactivul 55). În scurt timp apare o coloraţie albastră datorită formării de albastru de indofenol. Oxidazele dehidrogenează moleculele ambelor substanţe, care se cuplează dînd produ-

sul colorat, iar hidrogenul este cedat oxigenului molecular din aer, rezultînd apă:



N-dimetilparafenilen-diamina *α-naftol*

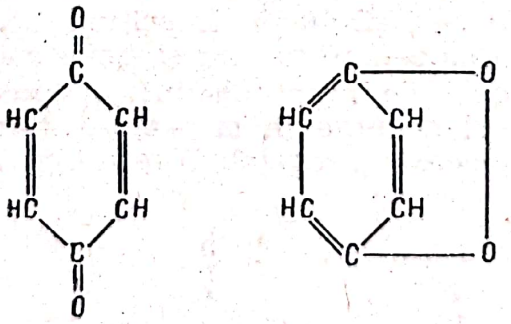


albastru de indofenol

Experiența nr. 208

PEROXIDAZA

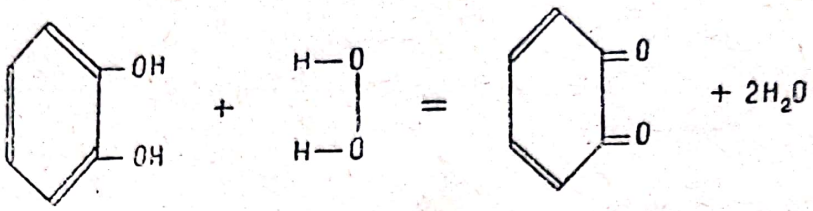
În urma activității unor dehidraze aerobe, oxidazele, se formează apă oxigenată, care este un peroxid de hidrogen. În urma oxidării polifenolilor rezultă chinone, care se pot prezenta fie sub formă chinoidică, fie sub formă peroxidică. De asemenea,



chinona în forma chinoidică *chinona în forma peroxidică*

prin oxidarea cu ajutorul aerului a carotenoidelor, acizilor grași nesaturați, a terpenelor, iau naștere diferiți peroxizi organici. Peroxidaza este un ferment care poate oxida substraturile organice numai cu ajutorul oxigenului peroxidic. Se formează mai întîi

compuși complecși între peroxizi și peroxidaze, în urma cărui fapt peroxizii se oxidează și devin acceptori de hidrogen. În mare, reacția decurge astfel:

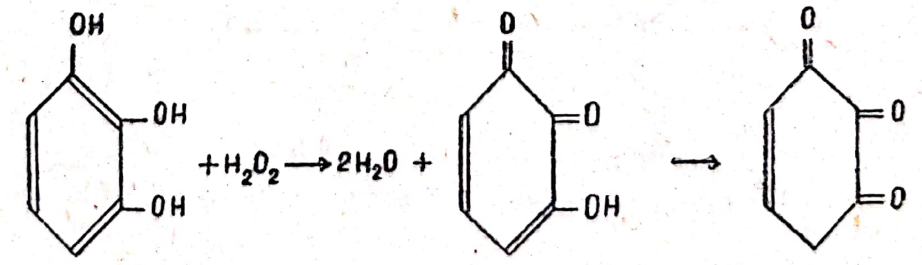


Existența peroxidazelor în materialele vegetale se poate pune în evidență cu reactivi care prin oxidare (dehidrogenare) dau produși colorați, de exemplu tinctură de guaiac, NADI sau pirogalol, în prezența apei oxigenate.

a) *Proba cu tinctură de guaiac.* Se taie o felie dintr-o rădăcină de hrean, pe care se picură tinctură de guaiac. Nu se observă apariția culorii albastre, deoarece oxidazele sînt în cantitate prea mică pentru a oxida tinctura de guaiac. Dacă se adaugă o picătură de apă oxigenată 3% (reactivul 12 *a*), coloratia albastră a formei oxidate a acidului guaiaconic apare imediat. Procesul decurge ca și în cazul oxidazelor, cu deosebirea că acceptorul de hidrogen este oxigenul de la peroxidul de hidrogen (apa oxigenată). Reacția se poate executa și pe filtrat obținut din rădăcină de hrean triturată, în care se adaugă tinctură de guaiac și apă oxigenată. Filtratul devine albastru în urma acelorași procese.

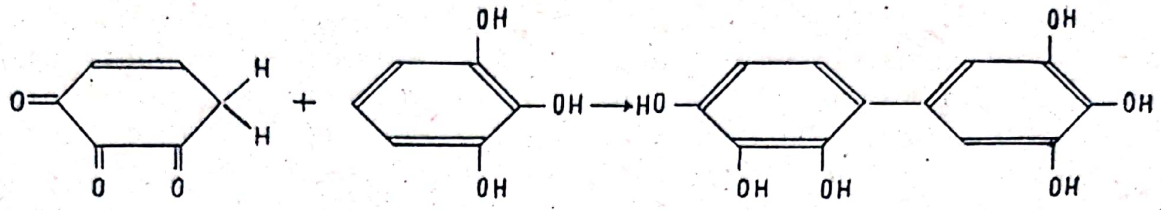
b) *Reacția NADI.* Pe o felie de hrean proaspăt tăiată se pun 2—3 picături de reactiv NADI (reactivul 55); adăugînd 1—2 picături de apă oxigenată, apare coloratia albastră, datorită formării albastrului de indofenol. Procesul de dehidrogenare decurge ca și în cazul evidențierii oxidazelor. Acceptorul de hidrogen este oxigenul peroxidului. Reacția are loc identic și în filtratul din rădăcina de hrean.

c) *Proba purpurogallinei.* Se iau într-o eprubetă 1—2 ml de filtrat dintr-o rădăcină de hrean. Se adaugă 0,2—0,5 ml de soluție de pirogalol 2% și cîteva picături de H_2O_2 0,5% (reactivul 12 *b*). Conținutul eprubetei se colorează în galben-portocaliu și, ceva mai tîrziu, la suprafață apar picături portocalii de purpurogalină, produsul final al oxidării pirogalolului. Procesul decurge în mai multe trepte. În primul rînd, peroxidaza dehidrogenează pirogalolul, rezultînd o ortochinonă, conform reacției:



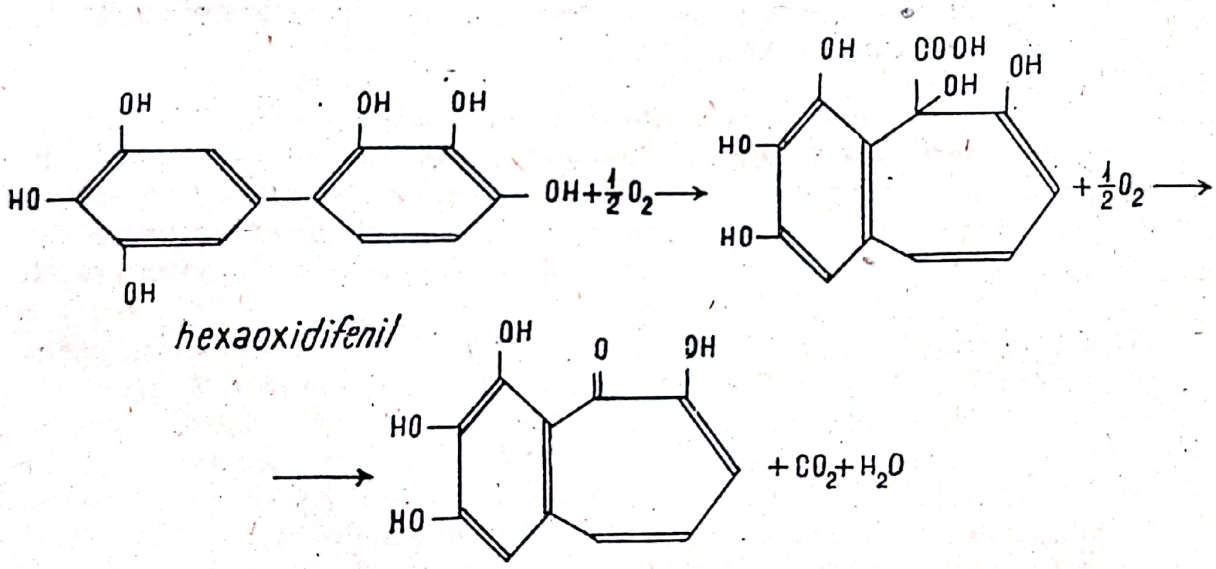
pirogalol *o-chinonă* *tricetociclohexen*

Ortochinona este nestabilă și nedecelabilă chimic, deoarece tautomerizează în tricetociclohexen. În exces de pirogalol, decurge o cuplare între tricetociclohexen și pirogalol în raport $^1/_1$, din care rezultă hexaoxidifenil:



tricetociclohexen *pirogalol* *hexaoxidifenil*

Prin oxidarea hexaoxidifenilului se elimină o moleculă de apă și de CO_2, rezultînd purpurogalina, un derivat benzotropolonic:



hexaoxidifenil *purpurogalină*

Experiența nr. 209

CATALAZA

Din grupa enzimelor de scindare fac parte fermenți care catalizează variate reacții. Unele enzime din această grupă catalizează scindarea CO_2 (carboanhidraze, decarboxilaze), altele catalizează scindarea amoniacului (aspartaza), altele catalizează scindarea apei din combinații complexe (fumaraza, enolaza, *catalaza*).

Catalaza scindează peroxidul de hidrogen (apa oxigenată), care ia naștere prin activitatea oxidazelor și care este toxic pentru celulă, în apă și oxigen, conform reacției: $2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalază}} 2H_2O + O_2$. Pentru observarea acestui proces, se montează pe o lamă, în apă oxigenată 3% (reactivul 12 *a*), două frunze tinere de *Elodea canadensis*, dintre care una fiartă. Fără întîrziere se privește la microscop, la o mărire slabă. Apa oxigenată pătrunde în frunză, și acolo unde există catalază va fi descompusă în apă și oxigen, care se va degaja sub formă de bule din spațiile intercelulare. La frunza nefiartă se va observa o puternică degajare de gaz, dovada existenței unei mari cantități de ferment. În frunza fiartă, unde catalaza s-a distrus, nu se observă nici o degajare de oxigen.

Experiența nr. 210

DETERMINAREA INTENSITĂȚII ACTIVITĂȚII FERMENȚILOR RESPIRATORI PRIN METODA GAZOMETRICĂ

Metodele gazometrice de determinare a intensității activității fermenților respiratori se bazează pe măsurarea schimbului gazos (absorbție sau eliminare), atunci cînd condițiile de activitate a fermenților sînt satisfăcute la maximum. Intensitatea activității fermenților se exprimă în cm^3 gaz schimbat/cantitatea de material experimentat/timpul de lucru.

Pentru măsurarea cantității de gaz eliberat se folosește un *gazometru*, care în principiu este construit ca și calcimetrul Bernard (v. fig. 81). Vasul de reacție, un borcan de reactivi, este astupat cu un dop de cauciuc străbătut de 2 tuburi de sticlă, dintre care unul cu robinet, care servește la echilibrarea presiunii interne cu cea externă în momentul închiderii aparatului, iar al doilea este în legătură, prin intermediul unui tub de cauciuc cu pereți groși, cu o biuretă așezată la suport. Biureta se continuă cu un tub de cauciuc care la capăt are un rezervor de sticlă. În biuretă și rezervor este apă, care pe principiul vaselor comunicante se ridică la același nivel.

Modul de lucru. Se ridică rezervorul pînă ce nivelul apei în biuretă ajunge la gradația zero (în partea de sus). Se pun în vasul de reacție lichidele de lucru, în cazul nostru suspensia de material vegetal de cercetat și reactivul, pus separat într-un creuzet. Se astupă vasul de reacție, se deschide robinetul de echilibrare, apoi se închide. Se verifică etanșeitatea instalației astfel: se coboară rezervorul cu apă și se menține la un anumit nivel. Nivelul apei în biuretă va coborî pînă la o înălțime oarecare, la care trebuie să se mențină cel puțin 1 minut. Dacă continuă să coboare, înseamnă că instalația nu este perfect etanșă și

trebuie verificată. Dacă instalația este etanșă, se ridică din nou rezervorul și apa în biuretă trebuie să ajungă la zero. Se amestecă lichidele de lucru clătinînd vasul de reacție. Gazul degajat va presa asupra apei din biuretă și nivelul acesteia va coborî. Coborînd rezervorul pînă ce nivelul apei din biuretă și cel al apei din rezervor ajung la aceeași înălțime, se citește volumul de gaz degajat la diviziunea de pe biuretă, unde se găsește nivelul apei.

a) *Determinarea intensității activității catalazei.* Se cîntărește o cantitate de material vegetal de cercetat între 200 și 300 mg și se mojarează timp de 3 minute cu un volum de soluție-tampon de fosfați cu *p*H = 7 (reactivul 65), așa fel ales ca în suspensia finală fiecare mililitru să conțină 20 mg de material. De exemplu, dacă greutatea în miligrame a materialului este 270 mg, cantitatea de soluție-tampon necesară este 270 : 20 = 13,5 ml. Din suspensia obținută se pun pe fundul vasului de reacție 10 ml, conținînd 200 mg de material. Tot în vasul de reacție, dar separat, într-un creuzet se pun 2—3 ml de apă oxigenată 1,5% (reactivul 12 *b*). Se închide instalația, se verifică, se răstoarnă apa oxigenată în suspensie, și după 3 minute de agitare a vasului de reacție se citește cantitatea de O_2 degajat. Pentru a ne convinge că este vorba de oxigen, ținem la capătul robinetului de echilibrare o așchie abia aprinsă. Dacă scoatem gazul din instalație prin ridicarea rezervorului și deschidem robinetul, așchia se aprinde și arde cu flacără vie.

Intensitatea activității catalazei se exprimă în cm^3 O_2 pe cantitatea de material experimentat în timpul de lucru dat. Dacă în experiența expusă s-ar fi degajat, de exemplu, 16,8 cm^3 O_2, atunci intensitatea activității catalazei ar fi fost 16,8 cm^3 O_2/200 mg/3 minute. Pentru unificarea diferitelor experiențe în care se lucrează cu cantități diferite de material, prin reguli de trei simple se poate raporta cantitatea de gaz, de exemplu, la 100 mg de material în trei minute. În laborator se pot compara intensitățile activității catalazei la diferite materiale vegetale, la semințe germinate de diferite vîrste etc.

b) *Determinarea intensității activității peroxidazei.* Se procedează cu materialul vegetal ca și în cazul catalazei, dar suspensia se face în soluție-tampon de fosfați cu *p*H = 6 (reactivul 65), iar în creuzet se introduc 2—3 ml de amestec în părți egale de pirogalol 2,5% și apă oxigenată 1% (reactivul 12 *b*). Reacțiile au loc așa cum s-a expus în lucrarea precedentă privitoare la punerea în evidență a peroxidazei. Se măsoară volumul de CO_2 degajat după 15 minute de agitare. Dacă se urmărește experiența un timp mai lung sau mai scurt, cantitatea de CO_2 degajată nu este proporțională cu cantitatea de peroxidază existentă în materialul vegetal cercetat.

Scanned with OKEN Scanner

7. EMISIUNEA DE CĂLDURĂ ÎN PROCESUL DE RESPIRAȚIE ȘI FERMENTAȚIE

Experiența nr. 211

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A CĂLDURII PRODUSE ÎN RESPIRAȚIE ȘI FERMENTAȚIE

S-a arătat încă de la începutul capitolului că procesele de degradare a glucidelor decurg cu degajare de energie, exprimată în calorii. O parte din această energie este utilizată în procesele sintetice și de creștere ale organismelor respective, o parte însă se degajă sub formă de căldură. Aceasta duce la ridicarea temperaturii plantei sau suspensiei de microorganisme observate, mai cu seamă dacă acestea sînt izolate termic de mediul înconjurător. Pentru punerea în evidență a căldurii eliberate în timpul respirației și fermentației, se folosesc vase termoizolate, ca vasele Dewar, în care se pune material de cercetat și prin gura cărora pătrunde un termometru sensibil. În același scop se pot folosi balonașe de 100 ml, în care se așază materialul de cercetat și care se pun în pahare Berzelius mai mari, pline cu rumeguș fin sau vată.

Se iau două vase termoizolate, cu termometre. În unul se pun semințe germinate, iar în al doilea semințe uscate. După un timp se va observa că în recipientul cu semințe germinate temperatura este mai ridicată, uneori cu 2—3°C, față de recipientul cu semințe uscate. Evident, ridicarea de temperatură se datorește căldurii emise în procesele metabolice ce au loc în semințele germinate.

Pentru dovedirea emisiunii de căldură în fermentație, se iau două vase termoizolate în care se pun cîte 20—25 ml de soluție de zaharoză 10% și cîte un termometru sensibil. În unul dintre recipiente se pune și o cantitate de drojdie de bere cît un bob de mazăre. Cînd procesul de fermentație va ajunge să se desfășoare intens, se va constata în interiorul recipientului o temperatură cu 1—2°C mai ridicată decît în recipientul cu soluție de zaharoză pură, care nu fermentează.

BIBLIOGRAFIE

1. Brugovitzky, Edit., *Növényélettani vizsgálatok*, Bukarest, 1957.
2. Chirilei, H., Pușcaș, M., Bărbat, I., *Manual de fiziologia plantelor*, București, Litografia și tipografia învățămîntului, 1957.
3. Dorobanțu, M., Mavromati, E., Dvornic, V., Sili, E., *Îndrumător pentru lucrări practice de fiziologia plantelor*, București, Institutul Agronomic „Nicolae Bălcescu" Atelierele de material didactic, 1958.

Scanned with OKEN Scanner

4. Detmer, W., *Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum*, Jena, Verlag von Gustav Fischer, 1907.
5. Georgescu, C. C., Popovici, Sabina, *Îndrumar de lucrări practice la fiziologia plantelor*, Brașov, Litografia învățământului, 1956.
6. Kretovici, V. L., *Bazele biochimiei plantelor*, București, Institutul de studii româno-sovietic, 1960.
7. Meșkova, N. P., Severin, S. E., *Praktikum po biohimii jivotnih*, Moskva, Sovetskaia nauka, 1950.
8. Moisescu, N., *Fiziologia vegetală experimentală*, București, Editura „Minerva", 1907.
9. Molliard, M., *Nutrition de la plante*, vol. III, Paris, Editura Gaston Doin, 1923.
10. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., Miller, M. S., Anikeev, V. V., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, Sovetskaia nauka, 1958.
11. Umbreit, W. W., Burris, R. H., Stauffer, J. F., *Manometriceskie metodi izuceniia tkanevogo obmena*, Moskva, Izdatelstvo inostrannoi literaturî, 1951.
12. Fedorov, M. V., *Rukovodstvo k prakticeskim zaniatiiam po mikrobiologhii*, Moskva, Izdatelstvo selskohoziastvennoi literaturî, 1951.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL VIII

CREȘTEREA

de conf. univ. dr. EMILIA CUPCEA

A. GERMINAȚIA SEMINȚELOR

1. CAPACITATEA DE GERMINAȚIE A SEMINȚELOR

Sămînța *uscată* se află în stare de repaus, dar în deplină potență de dezvoltare. Latența ei este suprimată numai după ce se produc o serie de schimbări interne și în anumite condiții ale mediului ambiant, cînd embrionul trece în stare activă și sămînța germinează. Ea nu poate germina decît după ce este coaptă, adică după ce au avut loc anumite fenomene morfologice (dezvoltarea embrionului și a endospermului) și fiziologice (acumularea de rezerve, deshidratarea). Capacitatea de germinație a seminței nu este constantă: imediat după recoltare este scăzută sau nulă; crește în cursul perioadei de *postmaturație* (v. experiența nr. 214, *a*) și devine maximă la încheierea ei; apoi scade treptat cu *vîrsta* (v. experiența nr. 214, *b*) și cu condițiile *necorespunzătoare de păstrare* (v. experiența 214, *c*), stingîndu-se la urmă cu totul.

Simpla observație nu ne permite să distingem semințele moarte de cele vii și nici să apreciem capacitatea de germinație a celor din urmă. Pentru aceasta este necesar să facem o probă de germinație spre a stabili *facultatea și energia germinativă* (v. experiența nr. 212), iar tratamentele cu chimicale ne oferă posibilitatea să apreciem *vitalitatea* semințelor (v. experiența nr. 213).

Experiența nr. 212

DETERMINAREA FACULTĂȚII ȘI ENERGIEI GERMINATIVE

Prin proba germinației asigurăm semințelor condiții optime (specificate în standardele de stat) de umiditate, temperatură și aerare și urmărim cîte din ele germinează și cît de repede: Stabilim astfel *facultatea germinativă*, care ne arată totalul semințelor capabile de a germina dintr-un anumit lot, și *energia germinativă*, care ne indică viteza cu care se declanșează procesul.

Pentru efectuarea probei germinației folosim *germinatoare*, adică recipiente care permit cultivarea semințelor într-un spațiu saturat cu vapori de apă. Ele sînt formate din suportul pentru substratul de germinație, rezerva de apă, capace care evită uscarea și deschideri pentru accesul aerului. Cele mai utilizate sînt germinatoarele din sticlă (cutii Petri) sau din pămînt ars smălțuit (de exemplu, vase Linhard, în care semințele se așază pe hîrtie de filtru susținută pe un disc de sticlă sprijinit de pereții vasului și alimentată cu apă de pe fundul recipientului, cu ajutorul unui fitil din hîrtie de filtru, fig. 141). La nevoie ne putem servi de farfurii adînci acoperite

Scanned with OKEN Scanner

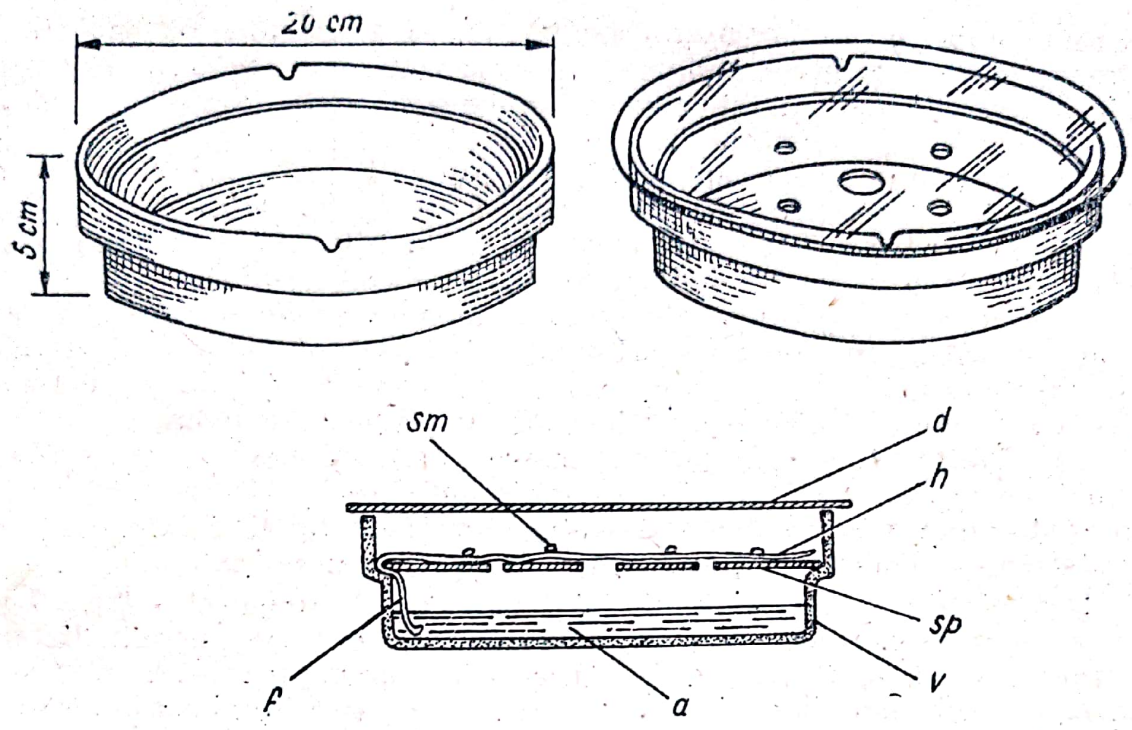


Fig. 141. Germinatoare Linhard :
v — vas smălțuit ; *sp* — suport (perforat) de sticlă ; *h* — hîrtie de filtru ; *f* — fitil de hîrtie de filtru ; *a* — apă ; *sm* — semințe ; *d* — disc de sticlă.

cu farfurii mai mici și suprapuse. Germinatoarele se dezinfectează prin căldură (fierbere în apă) sau cu chimicale (alcool, formalină).

Ca *substraturi de germinație* se întrebuințează:

1) *Pentru semințele mici.* a) *Hîrtia de filtru* groasă (sau *sugativa* albă). Se folosește o singură dată, pentru că pot pătrunde în ea din semințe substanțe inhibitoare ale germinației. Semințele se așază pe sau între straturile de hîrtie. Aceasta are diferite forme, după mărimea boabelor, după necesitatea de lumină sau întuneric și după felul aparatului: 1) formă de discuri așezate pe fundul cutiilor Petri sau al farfuriilor și umectate direct; discuri puse pe suporturile aparatelor speciale Iacobsen și Polikeit; 2) formă de bandă rulată într-un cilindru de sticlă cu capac; 3) formă de plicuri de 12/18 cm, păstrate în termostat și umectate cu apă prin pulverizare, sau 4) formă de foi în 2—3 straturi așezate peste tifon sau peste nisip umed.

b) *Tifonul.* Se întrebuințează, după sterilizare prin fierbere, pentru semințele care reclamă exces de apă și se pune în mai multe pături.

c) *Vata hidrofilă.* Se așază în cutii Petri și se folosește o singură dată.

d) *Pămîntul* (3 părți la 1 parte nisip) este mai rar utilizat. Unele semințe (de exemplu, *Kochia indica, Vaccaria pyramidata)* nu pot germina pe hîrtie de filtru și necesită pămîntul ca substrat de germinație, deoarece acesta sustrage din ele adsorbtiv substanțele inhibitoare ale germinației.

2) Pentru semințe mari se folosește *nisipul* fin de cuarț (cu diametrul bobului de 0,5—1 mm), calcinat, spălat și sterilizat (încălzit pe tăvi pînă la brunificarea unei bucăți de hîrtie introduse în el la început). Se umectează la 60% din capacitatea sa maximă pentru apă (v. experiența nr. 55), se pune în germinatoare într-un strat gros de 2—3 cm și i se nivelează suprafața cu o placă de lemn.

Toate substraturile trebuie umectate cu apă curată din fîntînă sau cu apă de conductă sau de izvor.

Semințele care urmează să fie supuse probei de germinație se iau din proba de analizat (de exemplu, la grîu dintr-o masă de 20 000 kg se formează o probă de 1 kg), care se obține extrăgînd semințe din diferite

locuri și adîncimi ale grămezii pentru ca să reprezinte cît mai fidel întreaga masă. Semințele trebuie să fie pure (fără semințe de alte plante, nisip, fragmente de pămînt, pleavă, boabe seci etc.), dar nu se selecționează cu ocazia numărării.

Pentru determinarea capacității de germinație se lucrează de obicei, în cazul semințelor (respectiv al fructelor) mici, cu 400 de boabe, în 4 repetiții paralele (*a, b, c, d*) de cîte 100 de boabe; din semințele mari (de exemplu porumb) sînt suficiente $4 \times 50 = 200$ de boabe.

Semințele supuse probei de germinație, fără să fie în prealabil îmbibate, se așază cu pensa pe suprafața substratului în rînduri drepte și echidistante (0,5—1,5 cm). În cazul nisipului se afundă la o adîncime egală cu grosimea lor, presîndu-le ușor cu o placă de lemn.

Germinatoarele se acoperă cu capacele și se etichetează (nr. probei, semnul repetiției, data punerii la germinat); totodată, se notează în fișe: data, numirea plantei, substratul, temperatura și datele cînd se vor determina energia germinativă și facultatea germinativă.

Temperaturile de germinație sînt cuprinse în general între 15 și 20°C. Pentru semințele care germinează repede, este recomandabilă păstrarea la temperatura constantă de 20°C, iar pentru cele care germinează greu (mai ales cerealele care nu au parcurs postmaturația) sînt favorabile temperaturile alternante: zilnic, timp de 6 ore 30°C, iar 18 ore 20°C. Germinatoarele se așază pe rafturi într-o încăpere caldă, în care se poate menține temperatura constantă de 20°C, în termostate sau în aparate speciale (de exemplu, Jacobsen).

Condițiile de luminare. La majoritatea semințelor, probele de germinație se fac la lumina moderată de zi. Semințele care nu germinează decît la lumină se pot crește în termostate cu pereți laterali de sticlă, iar cele care cer întuneric, în termostate obișnuite cu pereți opaci.

Îngrijirea probelor. Semințele cu grad mare de imbibiție trebuie bine aprovizionate cu apă în faza îmbibării; apoi se tratează la fel ca celelalte, adică se controlează zilnic umiditatea, umectîndu-se de cîte ori este necesar, se verifică temperatura cu termometrul de maximă și de minimă și se reglează la valoarea cerută, se aerează.

Rezultatele. După un timp de la așezarea semințelor (respectiv a cariopselor) pe substratul de germinație, în condițiile descrise, începe germinația. Se consideră germinate: în cazul celor îmbrăcate în palee (orz, ovăz), semințele la care a apărut radicula normală; la cele fără palee (grîu, porumb, secară), semințele care prezintă atît radicula cît și tulpinița normale. Se apreciază drept radiculă normală cea care are lungimea egală cu lungimea seminței (la semințele alungite) sau cu diametrul ei (la cele sferice); tulpinița normală trebuie să atingă $^1/_2$ din lungimea seminței.

Ambii indici, atît energia cît și facultatea germinativă, sînt dați de valoarea procentuală a semințelor germinate în anumite intervale de timp. Pentru facultatea germinativă, timpul este astfel măsurat, încît după expirarea lui, în general, nu survin noi germinări. Pentru aprecierea energiei de germinație, numărătoarea se face după un interval

cuprins între $^1/_3$ pînă la $^1/_2$ din durata stabilită pentru determinarea facultății germinative. Aceste termene variază în raport cu felul plantei, cu temperatura și cu tratamentele prealabile. Pentru obținerea de date concordante, s-au prelucrat metode oficiale în diferitele țări. În tabelul 13 sînt indicate termenele la care se face numărătoarea după normele laboratoarelor de control al semințelor din țara noastră, pentru cîteva dintre cele mai folosite plante în experiențele de fiziologie vegetală.

Tabelul 13

Date pentru stabilirea energiei germinative și a facultății germinative

Planta	Substrat	Temperatura °C	Numărul de zile pentru stabilirea	
			energiei germinative	facultății germinative
Avena sativa L. (ovăz)	*N,S*	20	4	8
Cucumis sativus L. (castravete)	*N*	20—30	3	8
Cucumis melo L. (pepene galben)	*N*	20—30	3	8
Cucurbita pepo L. (dovleac)	*N*	20	4	8
Helianthus annus L. (floarea-soarelui)	*N*	20	3	8
Hordeum sp. (orz)	*N,S*	20	3	7
Lactuca sativa L. (salată)	*S*	15—20	4	10
Lepidium sativum L. (creson)	*S*	15—20	3	10
Lupinus sp. (lupin)	*N*	20	4	10
Panicum miliaceum L. (mei)	*S*	20—30	3	8
Phaseolus vulgaris L. (fasole)	*N,S*	20	4	8
Pisum sativum L. (mazăre)	*N,S*	20	3	7
Secale cereale L. (secară)	*N,S*	20	3	7
Sinapis alba L. (muștar alb)	*S*	20	3	6
Solanum lycopersicum L. (roșii)	*S*	20—30	6	14
Triticum sp. (grîu)	*N,S*	20	3	7
Tropaelum mayus L. (călțunași)	*S,N*	20—30	5	14
Vicia faba L. (bob)	*N,S*	20	4	10
Zea mays L. (porumb)	*N,S*	20	4	7

* *N* — nisip.
S — sugativă sau hîrtie de filtru.

Numărarea. La prima numărare (care se face la termenul indicat pentru energia germinativă) se numără și se îndepărtează de pe substrat semințele germinate normal, precum și cele putrezite sau mucegăite (după atingerea cărora pensa se dezinfectează cu alcool); restul se lasă la germinat pînă la al doilea termen.

La a doua numărare, efectuată după intervalul de timp stabilit pentru determinarea facultății germinative, se procedează ca mai înainte: acum numărul semințelor germinate normal se adună cu cel obținut la prima numărare și se face totalul. Numărarea se execută la fiecare repetiție în parte (adică la cîte 4 experiențe) și se calculează media aritmetică, exprimată în cifre întregi.

Scanned with OKEN Scanner

Din media semințelor normal germinate, aflate la prima numărare, raportată la 100, se obține *energia germinativă*, adică însușirea semințelor de a germina, exprimată în procente de semințe germinate în $^1/_3$—$^1/_2$ din durata germinației (indice care oglindește viteza germinației). Din media totalului semințelor germinate normal, aflate în ambele numărări, se calculează de asemenea procentul spre a obține *facultatea germinativă*. Aceasta este egală cu capacitatea semințelor de a germina, exprimată prin procentul semințelor germinate în durata medie a germinației, stabilită pentru fiecare specie în parte, și este indicele care traduce cîte semințe dintr-un lot sînt capabile de germinație.

Referatul asupra rezultatelor experienței se face după modelul indicat în tabelul 14.

Tabelul 14

Proba germinației semințelor (după M. Raianu)

Data . . . . Semințe de . . . . Nr. de semințe . . . .
Temp . . . . °C

Semnul repetiției	Numărarea I (energia germinativă)	Numărarea a II-a (facultatea germinativă)
	Data . . .	Data . . .
a	91	97
b	90	98
c	93	96
d	90	98
Total	364	389
Media	91	97

Energia germinativă = 91%
Facultatea germinativă = 97%

Experiența nr. 213

VITALITATEA SEMINȚELOR

Semințele care se află în *stare de repaus* nu germinează, chiar dacă condițiile mediului extern sînt acelea care în mod obișnuit declanșează procesul. Cu ele nu reușește proba germinației, cu toate că au embrionul viu. Se poate însă ști ce facultate germinativă vor avea după încheierea stării de repaus, prin determinarea *vitalității lor*, bazată pe tratamente cu chimicale, care colorează deosebit celulele vii și moarte. Metoda se aplică și ca alternativă pentru testele standard de germinație (care durează prea mult), permițînd *stabilirea rapidă a capacității de germinare*.

1) *Proba biochimică cu clorură de trifenil tetrazoliu (TTC) (Lakon).* Se bazează pe faptul că semințele vii respiră și de aceea sînt capabile să reducă clorura de 2, 3, 5-trifeniltetrazoliu solubilă și incoloră în trifenilformazan insolubil și roșu. Ca urmare, celulele vii tratate cu soluție 1% TTC (reactivul se păstrează mai multe luni în întuneric) se colorează, pe cînd cele moarte nu.

Proba rapidă de germinație cu TTC trebuie executată cu 100 de semințe, însă, pentru a ne da seama doar de semnificația metodei,

Scanned with OKEN Scanner

se experimentează paralel cu două variante de cîte 20 de boabe de orz (*Hordeum vulgare: a*) semințe vii și *b*) moarte (fierte în apă 5 minute, apoi uscate la aer). Semințele se îmbibă în apă 2 ore, după care cîte 10 boabe din fiecare variantă se pun la germinat (pe hîrtie de filtru, în cutii Petri, la întuneric), iar cu celelalte *10* se efectuează proba biochimică. Semințele se taie în două în lungime, înjumătățind median embrionul (fig. 142); se acoperă complet cu TTC în cutii Petri deschise și se țin 1—7 ore în întuneric și la temperatura camerei.

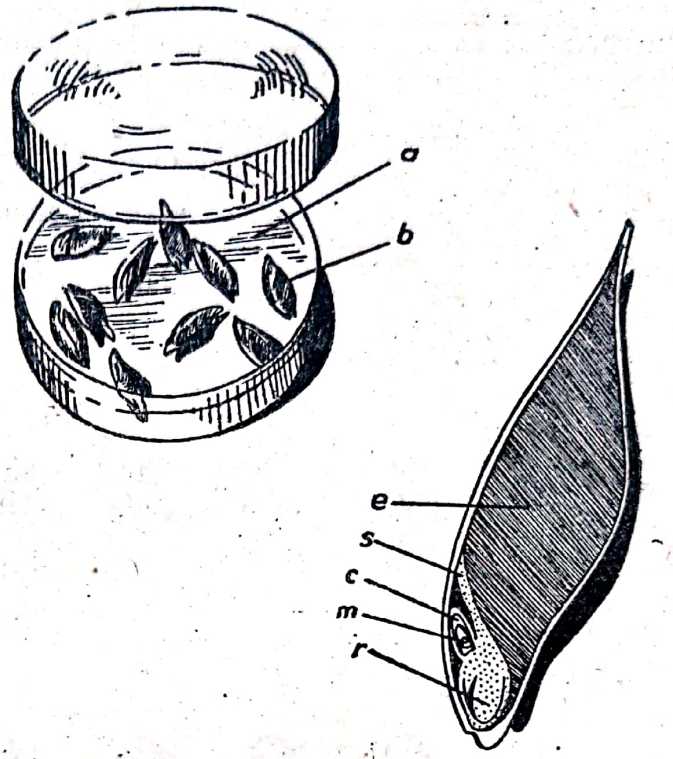


Fig. 142. Proba vitalității semințelor cu TTC:
a — soluție TTC; *b* — jumătate de cariopsă de orz; *e* — endosperm; *s* — scutellum; *c* — coleoptil; *m* — muguraș; *r* — radicula (după L. Machlis — J. G. Torrey).

Se examinează și se notează pentru fiecare variantă numărul semințelor cu embrion viu. Sînt considerați astfel toți embrionii colorați în roșu-carmin (indiferent de intensitatea culorii) în zona mugurașului și într-o cît de mică porțiune din radiculă. Cei necolorați sînt morți. Rezultatele se compară, pentru a ne da seama de concordanța lor, cu cele ale probelor paralele de germinație, după ce s-au încheiat și acestea.

Referatul va cuprinde datele menționate în tabelul 15.

Tabelul 15

Proba vitalității semințelor

Data . . . Semințe de . . . . . Nr. de semințe dintr-o variantă . . .

Proba cu TTC	Nr. Semințelor colorate	% semințe vii
varianta *a* (vii)	. . .	. . .
varianta *b* (moarte)	. . .	. . .
Proba germinației	Nr. semințelor germinate	% semințelor germinate
varianta *a*	. . . .	. . . .
varianta *b*	. . . .	. . . .

Dacă se execută experiența cu porumb, după 4 ore se numără ca vii acei embrioni care sînt complet colorați sau la care este colorat numai mugurașul, radicula și $^1/_2$ din scutelum.

În cazul ovăzului, secțiunea se face transversal pe materialul neîmbibat, iar jumătățile cu embrioni, după ce au fost degajate de palei, se tratează cu TTC; rezultatul se ia după 24 de ore.

La orz, secară și grîu se aplică o variantă a metodei care constă în tratarea cu TTC a *embrionilor izolați* (fig. 143) cu ajutorul acului spatulat. Operația izolării reclamă o preîmbibare mai îndelungată decît secționarea (de 6—18 ore); rezultatele se iau după 6 ore.

Pentru determinarea vitalității semințelor se poate folosi și soluția 1% selenit acid de sodiu (Eidmann), cu care embrionii vii se colorează în roșu (intensitatea culorii traducînd gradul lor de vitalitate), iar cei morți rămîn incolori. Reacția se bazează pe faptul că enzimele din celulele vii reduc selenitul în seleniu elementar roșu. Procedeul constă în îndepărtarea tegumentului seminal la semințele care au fost îmbibate timp de 18 ore la 20°C, apoi în păstrarea lor în soluția de selenit timp de 48 de ore la 18—20°C. Examinarea cu TTC este însă preferabilă celei cu selenit, pentru că dă o concordanță mai bună cu testele de germinație, este mai rapidă și produsul este netoxic (pe cînd selenitul este otrăvitor).

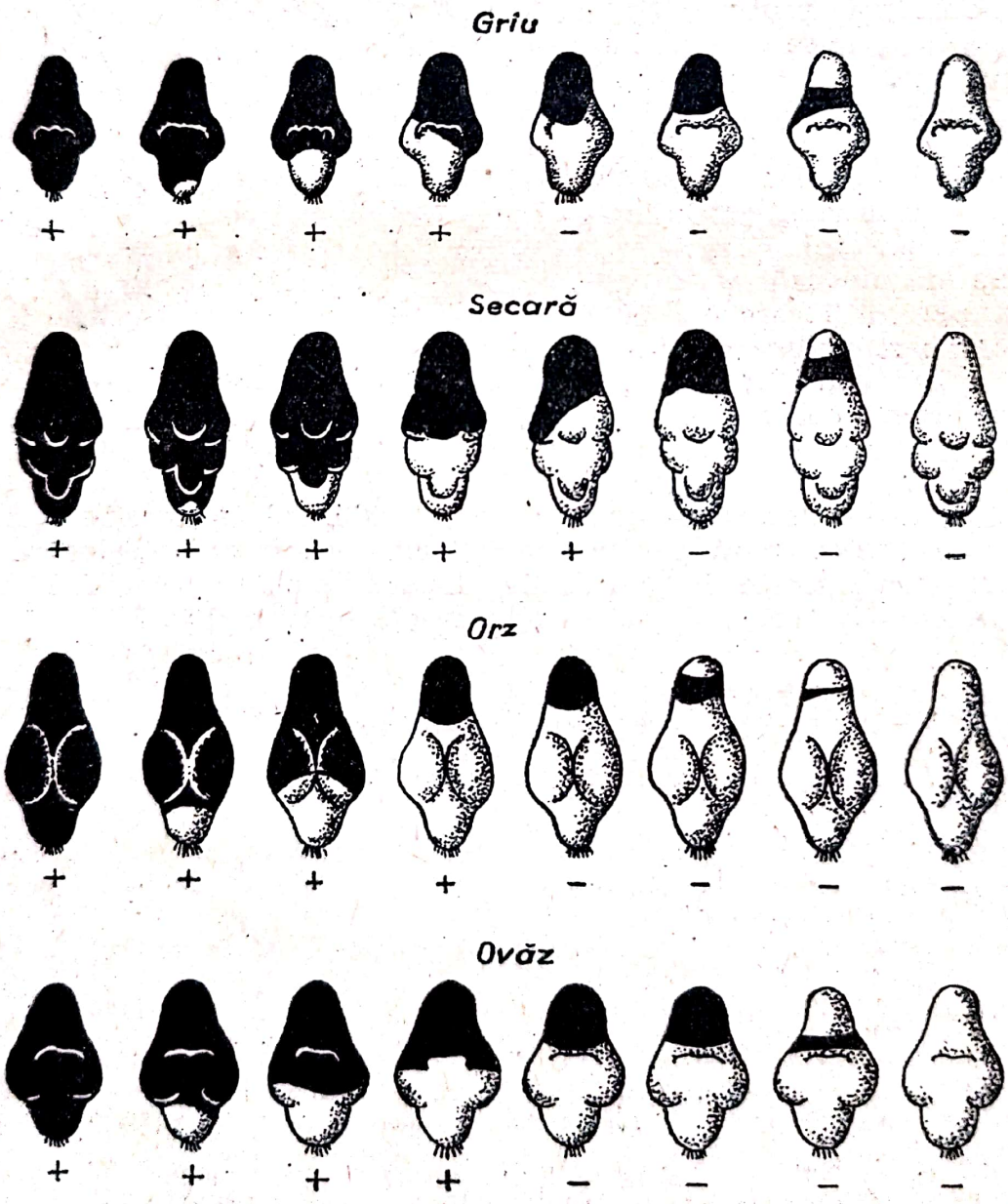


Fig. 143. Colorarea embrionilor izolați cu TTC (după Lakon).

2) *Proba tratării cu coloranți.* Se bazează pe permeabilitatea mărită a celulelor moarte. Tratînd semințele cu anumiți coloranți de anilină, aceștia colorează semințele moarte, lăsîndu-le incolore pe cele vii.

a) *Metoda cu indigocarmin (Neljubov).* Se lucrează paralel cu 2 variante de cîte 20 de semințe de mazăre *(Pisum sativum)* sau fasole *(Phaseolus vulgaris): a)* vii și *b)* moarte (omorîte prin fierbere). După îmbibare de 2—3 ore în apă de 30°C se înlătură tegumentele, iar semințele cu embrionii descoperiți (sau embrionii izolați) se acoperă în cutii Petri cu soluția 0,2% indigocarmin (proaspătă), în care se țin 3—4 ore la 30°C (sau 12—18 ore la 20°C). Se scurge colorantul, se spală semințele cu apă rece și se face imediat aprecierea colorării (căci prin uscare se decolorează). Se compară rezultatele colorării la semințele vii și moarte, se numără și se notează semințele cu embrion viu din fiecare variantă. Sînt vii cele care au rămas necolorate sau au cotiledoanele numai parțial colorate și sînt considerate moarte semințele colorate în întregime și cele cu radicula sau cotiledoanele colorate.

b) *Metoda cu fuxină acidă (Ivanov).* Semințele de mazăre *(Pisum sativum)* se îmbibă în apă 4—5 ore la 30°C (sau 12—16 ore la 20°C); se scurg de apă pe hîrtie de filtru și se înjumătățesc prin planul de despărțire al cotiledoanelor (la cereale se secționează longitudinal), apoi se spală și se țin 4—5 minute în soluție 0,1% fuxină acidă (aceasta se obține dintr-o soluție 1% prin diluare în momentul întrebuințării, deoarece soluția diluată nu se păstrează). Colorantul se decantează, semințele se spală cu apă și se apreciază rezultatul: semințele vii sînt necolorate, cele moarte, complet sau parțial colorate în roșu.

Experiența nr. 214

VARIAȚIA FACULTĂȚII GERMINATIVE A SEMINȚELOR

a) *Influența gradului de postmaturație.* Numeroase semințe, aparent coapte, nu pot germina imediat după recoltare, pentru că nu își ating maturitatea fiziologică decît după o perioadă de repaus.

Se recoltează semințele (respectiv cariopse, de exemplu, de porumb) incomplet coapte și se împart în două serii. Cu prima se efectuează proba de germinație (v. experiența nr. 212). A doua se păstrează în loc uscat 1—2 luni, după care se supune aceleiași probe. Se constată creșterea facultății și a energiei germinative la semințele din seria a doua, în comparație cu valorile obținute direct după recoltare.

Datele referatului se trec în tabelul 16.

Tabelul 16

Influența gradului de postmaturație asupra facultății germinative

Data . . . Semințe de . . . . . .

	I imediat după recoltare	II după . . . luni
facultatea germinativă	. . . %	. . . %
energia germinativă	. . . %	. . . %

Deci pentru a germina, seminţele trebuie să parcurgă o perioadă de postmaturaţie (intervalul în cursul căruia se petrec transformări prin care capacitatea lor de germinaţie creşte).

b) *Influenţa vîrstei.* Facultatea germinativă este mai mare la seminţele tinere şi ea scade cu vîrsta. Pentru a dovedi aceasta, sînt necesare rezerve de seminţe de aceeaşi specie şi provenienţă, păstrate în condiţii identice, însă de diferite vîrste, de exemplu de 1, de 5 şi de 10 ani. Supunîndu-le probei de germinaţie (v. experienţa nr. 212) pe hîrtie umedă de filtru, în cutii Petri, se constată scăderea şi dispariţia facultăţii germinative pe măsură ce îmbătrînesc seminţele (de exemplu, facultate germinativă de 100% la cele de 1 an, 40% la cele de 5 ani şi 1—0% la seminţe de 10 ani). Referatul va cuprinde datele din tabelul 17.

Tabelul 17

Influenţa vîrstei asupra capacităţii de germinaţie a seminţelor

Data . . . . Seminţe de . . . . . .

	vîrsta (ani)		
	1	5	10
energie germinativă	. . . %	. . . %	. . . %
facultate germinativă	. . . %	. . . %	. . . %

Seminţele de cereale şi de leguminoase trăiesc mult. O viaţă deosebit de scurtă (uneori abia 2 săptămîni) au seminţele de salcie şi de ulm.

c) *Influenţa condiţiilor de păstrare.* Condiţiile din încăperea în care sînt înmagazinate seminţele, cu deosebire de gradul de *umiditate* şi de *temperatură*, influenţează capacitatea lor de germinaţie.

Efectul nociv al umidităţii (Ruge U.) se poate demonstra făcînd proba germinaţiei cu seminţe (respectiv cariopse de cereale) care au stat diferite intervale de timp într-un spaţiu saturat cu vapori de apă. Aceasta se realizează ţinînd seminţe cu facultate germinativă mare într-o cutie Petri deschisă, aşezată într-un recipient mai mare, care conţine apă şi este acoperit cu o placă de sticlă. Varianta *a* se introduce în acest spaţiu umed cu 6 luni, *b*, cu 3 luni, *c*, cu 1 lună înainte de experienţă, iar varianta — martor *d* este alcătuită din acelaşi fel de seminţe, însă păstrate 6 luni în aer uscat.

Proba germinaţiei (v. experienţa nr. 212) ne arată scăderea capacităţii de germinaţie a seminţelor proporţional cu durata expunerii lor la umiditate. La seminţele păstrate în condiţii necorespunzătoare, energia germinativă scade mai brusc decît facultatea germinativă. Referatul va cuprinde datele din tabelul 18.

Rezistenţa seminţelor la acţiunea nocivă a temperaturilor înalte depinde de conţinutul lor în apă. Deshidratarea seminţei are drept consecinţă mărirea rezistenţei sale faţă de factorii nocivi ai mediului ambiant. Sensibilitatea sa creşte proporţional cu îmbibarea. Aceasta se poate dovedi comparînd efectul pe care îl are asupra facultăţii germinative expunerea la temperaturi înalte a seminţelor uscate şi a celor îmbibate.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 18

Efectul păstrării semințelor în umiditate asupra capacității de germinație

Data . . . . Semințe de . . . . . .

Varianta	Durata păstrării în umiditate luni	Energie germinativă %	Facultate germinativă %
a	6	...	...
b	3	...	...
c	1	...	...
d	netratat (martor)	...	...

Șapte serii de cîte 100 de cariopse de grîu (*Triticum* sp.), care germinează bine, se leagă fiecare în cîte o bucată de tifon. Patru din ele se îmbibă în apă de conductă, la temperatura camerei, pe diverse perioade de timp, socotite în așa fel încît îmbibarea să se întrerupă deodată la toate seriile: variantele I, II și III se îmbibă respectiv 24, 12 și 1 ore; IV, 10 minute; V, VI, VII se păstrează neîmbibate, uscate, în exsicator cu H_2SO_4.

Primele 5 variante de semințe le atîrnăm timp de 10—15 minute într-o baie de apă de 80—90°C, iar cariopsele uscate din varianta VI se țin tot atît timp în căldură uscată într-un termostat la 80—90°C (în lipsa termostatului, în eprubete uscate, astupate și scufundate în baia de 80—90°C). Cele din varianta VII nu sînt supuse nici unui tratament termic și servesc drept control. După expunerea la căldură, fiecare variantă se pune separat în cîte o cutie Petri, pe hîrtie umedă de filtru, și i se determină energia și facultatea germinativă (v. experiența nr. 212). Din rezultatele obținute se constată rezistența mult mai mare la temperaturile înalte a cariopselor uscate decît a celor îmbibate, precum și că acțiunea dăunătoare a temperaturii înalte (manifestată prin scăderea capacității de germinație) este cu atît mai accentuată cu cît semințele au fost îmbibate timp mai îndelungat; în fine, că semințele uscate n-au fost vătămate prin tratamentul termic. Referatul se face după modelul dat în tabelul 19.

Tabelul 19

Rezistența semințelor la temperaturi înalte

Data . . . . . Semințe de . . . . . .

Varianta	Durata îmbibării	Tratament	Energia germinativă %	Facultatea germinativă %
I	24 ore	10 minute baie 85°C	...	...
II	12 ore	10 minute baie 85°C	...	...
III	1 oră	10 minute baie 85°C	...	...
IV	10 minute	10 minute baie 85°C	...	...
V	neîmbibate	10 minute baie 85°C	...	...
VI	neîmbibate	10 minute aer uscat 85°C	...	...
VII	neîmbibate	fără tratament	...	...

Scanned with OKEN Scanner

Experiența se poate efectua mai simplu astfel: în două eprubete se pun cîte 50 de boabe de grîu *(Triticum sp.)* sau 10 de mazăre *(Pisum sativum): a)* uscate, b) îmbibate timp de o noapte. Ambele eprubete se încălzesc 1 oră într-o baie de apă la 60°C. Apoi semințele se pun la germinat în ghivece cu rumeguș umed de lemn și după o săptămînă se determină procentul celor germinate. Se află că lotul *a* germinează, pe cînd semințele din *b* nu germinează și prezintă semne că sînt moarte.

Rezistența semințelor la temperaturile scăzute depinde de gradul lor de îmbibare (Ruge U.). Patru serii de cîte 100 de cariopse de grîu sau ovăz *(Avena sativa),* așezate în cutii Petri, se tratează astfel: *a* și *b* se mențin uscate; *c* și *d* se îmbibă în apă de conductă 12 ore. Apoi se expun toate 4 seriile timp de 12 ore la temperaturi scăzute de —5 —10°C, fie într-un frigider, fie așezînd cutiile Petri pe un amestec de 3 părți gheață sfărîmată sau zăpadă cu o parte sare de bucătărie. După acest tratament, loturile *a* și *c* se dezgheață treptat, iar *b* și *d* brusc (prin încălzire 1 oră pe baia de apă la 60°C). În fine, toate seriile se supun probei de germinație (v. experiența nr. 212).

Din rezultate reiese că semințele îmbibate sînt mai sensibile la frig decît cele uscate și că prin dezghețarea bruscă facultatea germinativă este mult mai scăzută. Datele se trec în tabelul 20.

Tabelul 20

Rezistența semințelor la frig

Data . . . . . Semințe de . . . . . .

Varianta	Tratament		Facultatea germinativă %
	Temperatura	Dezgheț	
a uscate	12 ore — 5°C	treptat	. . .
b uscate	12 ore — 5°C	brusc	. . .
c îmbibate	12 ore — 5°C	treptat	. . .
d îmbibate	12 ore — 5°C	brusc	. . .

Iarna se poate face o experiență demonstrativă simplă, expunînd la ger de —10°C, în aer liber, timp de o noapte, semințe de mazăre uscate și îmbibate; o doua zi se seamănă în rumeguș umed de lemn și se țin la cald. Se constată că nu germinează semințele care au fost supuse acțiunii frigului în stare îmbibată.

Utilizarea rezervelor din țesutul nutritiv al semințelor pentru creșterea embrionului. Sămînța uscată se caracterizează fiziologicește printr-o reducere extremă a proceselor vitale (urmare a deshidratării) și prin acumularea de rezerve. Prin îmbibare, tegumentul seminței devine permeabil, în consecință permite intrarea apei și a oxigenului. Cu declanșarea germinației — paralel cu hidratarea, care îi marchează începutul — procesele fiziologice din semințe se intensifică: se *activează enzimele* (v. experiența nr. 215), grație cărora are loc *utilizarea rezervelor* (v. experiența nr. 216), ceea ce permite embrionului să crească, să devină o plantulă și să-și formeze frunze verzi; cu care dobîndește capacitatea de a trăi autonom. Cu cît este mai mare *cantitatea de rezerve nutritive* cu atît este mai intensă și creșterea plantulei (v. experiența nr. 217). Sintezele care condiționează creșterea sînt corelate cu *intensificarea respirației,* aspect important al fiziologiei semințelor pe cale de germinație (v. experiența nr. 218).

Experiența nr. 215

ACTIVAREA ENZIMELOR ÎN SEMINȚELE PE CALE DE GERMINAȚIE (BEYERINCK, KLIRKENBERG)

Se poate aprecia deosebirea între activitatea amilazei în semințele aflate în stare de repaus și în cele germinate, făcînd să difuzeze enzima din ele într-un strat de agar amidonat, pe care îl tratăm ulterior cu iod. Reacția pozitivă pentru amidon ne indică absența, cea negativă prezența amilazei.

Prepararea agarului amidonat :o suspensie de 1 g de amidon de cartofi în 15 ml de apă rece se varsă încet în 85 ml de apă în clocot, pentru a obține o soluție limpede de 1% amidon. Se dizolvă în 100 ml de apă 2 g de agar^{++} (într-o capsulă de porțelan, pe baia de apă) și se adaugă 10 ml din soluția de amidon preparată mai înainte, omogenizînd bine. În loc de soluția 2% agar, se poate folosi o soluție 8% gelatină.

Se repartizează soluția fierbinte de agar amidonat în 3 cutii Petri, în straturi de 2—3 mm grosime. După solidificarea prin răcire a agarului așezăm pe suprafața lui: în primele 2 cutii jumătăți de boabe de porumb (*Zea mays)* sau de orz (*Hordeum* sp.), tăiate în lung și puse cu fața secționată în jos (circa 4—5 jumătăți într-o cutie Petri cu diametrul de 9 cm); în I semințele sînt uscate, în II germinate (întîi s-au îmbibat 4—6 ore în apă de 25—30°C, apoi s-au germinat pe hîrtie umedă de filtru timp de 4—7 zile la 20—30°C). În III se pun cu pipeta, în loc de semințe, tot atîtea picături dintr-o soluție de amilază.

Amilaza se extrage ușor cu apă din cerealele germinate: se sfărîmă în mojar 20 de boabe de orz germinate de 5—7 zile (în condițiile indicate pentru materialul germinat, II, din această experiență), împreună cu puțin nisip de cuarț, adăugîndu-se treptat un volum egal sau dublu de apă. Se filtrează sau se decantează și se centrifughează 5 minute.

Cele 3 cutii Petri, acoperite cu capace căptușite cu hîrtie de filtru umectată în apă distilată, se păstrează la 5—10°C sub un clopot de sticlă, sub care se găsește și o sticlă de ceas cu cîteva picături de ulei de cuișoare, care împiedică dezvoltarea microorganismelor.

După 48 de ore se îndepărtează semințele și se aspiră cu hîrtie de filtru picăturile de soluție, apoi se toarnă peste întreaga suprafață a masei de agar o soluție iodată (reactivul 64). Pe locurile unde amilaza a acționat asupra amidonului, acesta a fost descompus; de aceea, ele rămîn albe-gălbui după tratarea cu iod, în timp ce restul suprafeței se colorează în albastru-închis (fig. 144). În jurul semințelor germinate și al picăturilor de amilază (II, III), zonele incolore sînt extinse (amilaza activă); în schimb, în cazul semințelor uscate (I), aceste zone sînt

Scanned with OKEN Scanner

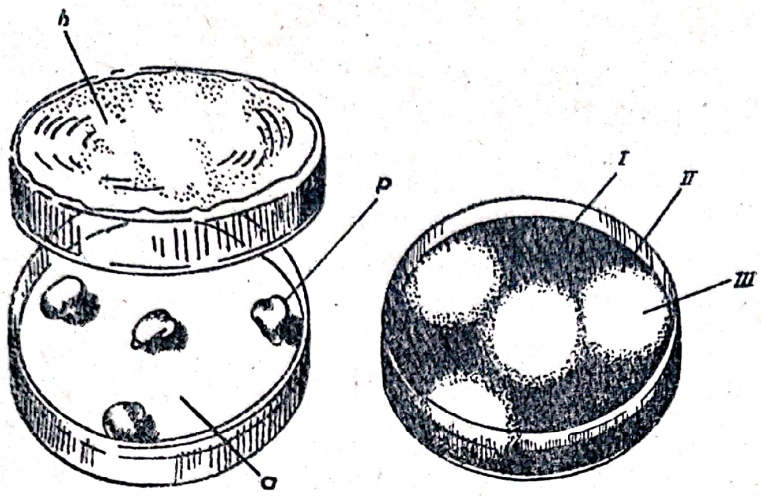


Fig. 144. Dovedirea activării enzimelor în semințele pe cale de germinație :

h — hîrtie de filtru ; *p* — jumătați de boabe de porumb ; *a* — agar amidonat. La dreapta, după tratarea cu iod : *I* — zona de amidon (albastră) ; *II* — inel roșu de dextrină (α-amilaza) ; *III* — zona incoloră de zaharifiere (β-amilaza).

limitate la spațiul de sub boabe. Împrejurul centrului de difuziune al enzimei se formează zone divers colorate, datorită acțiunii celor 2 amilaze: sub și în jurul bobului germinat este zona circulară incoloră în care *β-amilaza* a descompus amidonul pînă la maltoză (care nu dă reacție de colorare cu iodul); aceasta este înconjurată de un inel roșcat, zona în care *α-amilaza* a scindat moleculele de amidon în dextrine.

Experiența nr. 216

MOBILIZAREA REZERVELOR DIN SĂMÎNȚĂ ÎN CURSUL GERMINAȚIEI

a) *Amidonul.* Se poate pune în evidență transformarea amidonului în cursul germinației prin examinarea comparativă la microscop a grăunciorilor de amidon din endospermul boabelor negerminate de cereale și din al celor germinate. Ca urmare a hidrolizei amidonului în zahăr solubil, grăunciorii de amidon din semințele germinate prezintă figuri caracteristice de coroziune.

Se cercetează întîi aspectul normal al amidonului din boabe de grîu (*Triticum* sp.) îmbibate în apă 12—24 de ore: se taie bobul și se rade puțin material din endosperm, se răspîndește pe o lamă puțin lichid, obținut amestecînd o picătură de apă cu o picătură de soluție iodată (reactivul 64). La microscop se văd grăunciori colorați în albastru: unii mari, care apar rotunzi din față și lenticulari din profil; alții mici de formă neregulată, care umplu în celulă spațiul dintre cei mari.

Paralel, într-o picătură de apă iodată de pe altă lamă, se adaugă puțin lichid alb-lăptos, obținut prin strîngerea între degete a bobului unei plantule germinate de grîu sau de orz (plantule cultivate 10—14 zile în rumeguș de lemn). Amestecul se întinde pe lamă și se acoperă cu lamela. Se observă la microscop (cu mărire mijlocie) și se desenează grăunciorii mari de amidon corodați, adică acei care au porțiuni descompuse în zahăr (fig. 145). La început apar dinspre periferie mici canale radiare neregulate (locurile atacate de amilază); acestea se adîn-

cesc și se unesc cu alte fisuri circulare, pînă ce grăunciorul se fragmentează, iar în cele din urmă și fragmentele se dizolvă complet, transformîndu-se în zahăr solubil.

b) *Hemicelulozele.* Se poate urmări consumarea hemicelulozei de rezervă, depusă ca îngroșări pe membranele celulare ale unor semințe, observînd comparativ secțiunile microscopice prin semințele negerminate (celule cu membrane groase) și germinate (celule cu pereții subțiați).

Se prepară pe două lame secțiuni subțiri prin cotiledoanele semințelor de lupin *(Lupinus albus)*, călțunași *(Tropaeolum majus)* sau balsamine *(Impatiens balsamina)*, colorate cu soluție iodată (reactivul 64) și spălate în apă: I, semințe îmbibate numai cît este necesar pentru a permite secționarea (1 zi); II, semințe germinate timp de 1 și 2 săptămîni. Se examinează la microscop și se desenează (fig. 146).

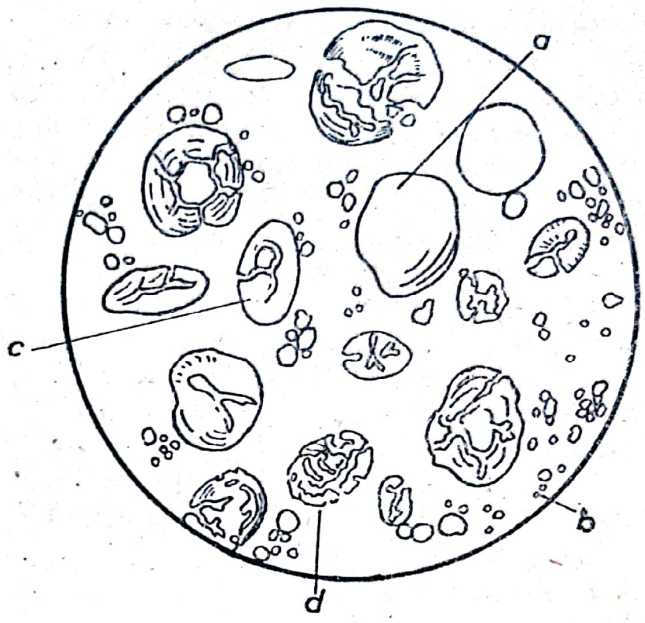


Fig. 145. Grăunciori de amidon din bobul de grîu, corodați în cursul germinației:
a — grăunciori de amidon întregi; *b* — grăunciori mici; *c* — începutul coroziunii; *d* — coroziunea avansată.

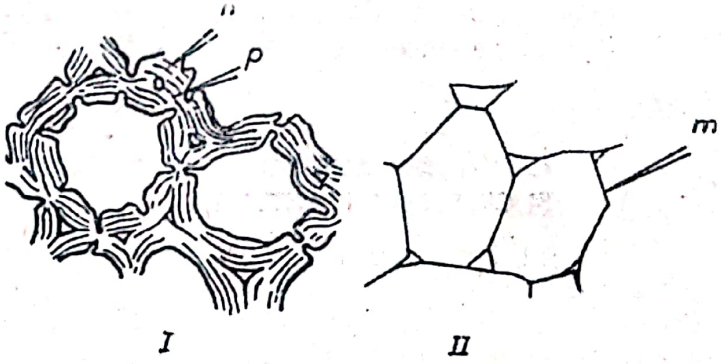


Fig. 146. Mobilizarea hemicelulozei la *Tropaeolum majus*:
I — secțiune prin sămînța uscată: *h* — îngroșări de hemiceluloză; *p* — punctuațiuni; *II* — după germinație: *m* — membrana primară.

În I apar pereții celulari colorați cu iodul în albastru, avînd îngroșări puternice de hemiceluloză, străbătute de punctuațiuni; în II, cea mai mare parte a hemicelulozei a fost hidrolizată în cursul procesului de germinație, transformîndu-se în zahăr folosit pentru creșterea plantulei; ea nu a rămas decît ca resturi ce apar în secțiune sub formă de fișii orientate radiar pe membrană sau a dispărut cu totul, rămînînd doar membrana primară subțire, care nu se colorează cu iodul.

c) *Grăsimile.* Transformarea grăsimilor de rezervă în cursul germinației se poate urmări la semințele de ricin *(Ricinus communis)*, care sînt foarte bogate în ulei; prin strivire lasă pete grase pe hîrtie (sămînța negerminată de ricin conține 70% ulei și 0,4% zahăr reducător; după germinație, abia 10% ulei, dar 32% zahăr reducător).

Scanned with OKEN Scanner

Semințele, neîmbibate, se pun la germinat și se cresc timp de 3 săptămîni în rumeguș umed de lemn. Hipocotilul (înalt de 6—8 cm) se taie de la bază, se mărunțește și se încălzește într-o eprubetă cu puțină apă. Se efectuează paralel proba Fehling (v. experiența nr. 156), cu extract apos din: *a*) hipocotil și *b*) dintr-o sămînță negerminată. Se constată că plantula conține o cantitate mare de zahăr rezultat prin transformarea grăsimilor, pe cînd cu semințele negerminate proba Fehling este negativă.

d) *Substanțele proteice.* Obținem un indiciu despre consumarea rezervelor proteice în cursul germinației tratînd cu reactiv Millon (reactiv 54) cotiledoanele semințelor de mazăre *(Pisum sativum): a)* de la semințe negerminate, *b)* de la semințe germinate de 2—3 săptămîni. Colorația cărămizie intensă, care apare chiar fără încălzire la primele, dovedește bogăția lor în substanțe proteice. Intensitatea scăzută a reacției din *b* arată scăderea treptată a cantității proteicelor de rezervă din cotiledoane.

Mobilizarea substanțelor de rezervă se poate observa și prin compararea secțiunilor transversale, făcute prin cariopsele de grîu germinate de 10—14 zile, cu secțiuni prin boabele îmbibate, dar negerminate. Preparatele trebuie să fie subțiri și se examinează în glicerină. La microscop se distinge, sub pericarp și tegumentul seminal, un strat de celule cu contur dreptunghiular, care conțin numeroși grăunciori de aleuronă (rezerve proteice), iar sub acesta se vede țesutul cu amidon. În secțiunile din sămînța negerminată, grăunciorii de amidon și de aleuronă apar intacți (devin și mai evidenți dacă se colorează cu iodul, în albastru, respectiv brun). După germinație însă, grăunciorii de amidon din celule sînt corodați, iar cei de aleuronă au dispărut; celulele stratului cu aleuronă conțin acum protoplasmă abundentă și nuclei voluminoși.

Experiența nr. 217

CANTITATEA SUBSTANȚELOR DE REZERVĂ DIN SĂMÎNȚĂ ȘI CREȘTEREA PLANTULEI

a) *Experiența de amputare a cotiledoanelor (V. A. Tetiurev).* Se îmbibă în apă 2—3 ore 30 de semințe mari și egale de mazăre *(Pisum sativum)* sau fasole *(Phaseolus vulgaris)*, apoi, după înlăturarea tegumentelor, se împart în 3 grupe de cîte 10: I semințe întregi, II semințe cărora li s-a amputat unul din cotiledoane și III semințe la care s-a îndepărtat un cotiledon în întregime plus ½ din al doilea. Toate 3 variantele se pun la germinat, semănîndu-se în ghivece separate și etichetate, cu nisip sterilizat și umed, și se cresc într-un loc cald.

Germinația și creșterea materialului se poate face și astfel: se căptușesc pînă sus pereții interni a 3 pahare Berzelius (de circa 300 ml) cu hîrtie de filtru și se toarnă în ele puțină apă; hîrtia trebuie să fie umectată și să adere la perete. În fiecare pahar se pun la germinat cele 10 boabe de mazăre dintr-o variantă. Se îndepărtează ușor hîrtia cu pensa și se strecoară cîte o sămînță între ea și sticlă, așa ca boabele să fie dispuse distanțate între ele, pe un singur rînd, cam la jumătatea înălțimii paharului. Se păstrează la căldură, adăugîndu-se apă de cîte ori este necesar.

Se va constata creșterea cea mai bună la plantele variantei I, care au dispus de cea mai mare cantitate de rezerve nutritive.

b) *Mărimea endospermului și creșterea plantulei.* Se îmbibă în apă de conductă 40 de cariopse mari și egale de grîu (*Triticum* sp.), secară *(Secale cereale)* sau ovăz *(Avena sativa)*, fără palee. Se formează 4 grupe

de cîte 10: I semințe întregi (martor); II semințe la care s-a amputat cu un bisturiu ascuțit ½ din endosperm; III semințe minus ¾ din endosperm; IV embrioni izolați (total lipsiți de endosperm). Se îmbibă în apă de conductă, apoi se pun la germinat în cutii Petri, pe hîrtie umedă de filtru, și se țin la căldură și întuneric timp de 1—2 săptămîni.

Se va stabili că energia de germinație (v. experiența nr. 212) este cu atît mai mare cu cît s-a îndepărtat mai mult din endosperm. Urmărind însă mai departe creșterea plantulelor, se va vedea că ea este puternic împiedicată prin îndepărtarea endospermului: plantulele sînt cu atît mai viguroase cu cît a fost mai mare porțiunea de endosperm de care au dispus, iar embrionii izolați, lipsiți de rezerve, pier. Prin tăierea endospermului, plantula este privată de substanțele de creștere; de aceea, frunzele nu își pot atinge dimensiunea normală. Aceasta se poate dovedi tratînd tot a doua zi frunzele cu soluție 0,001 *n* acid *β*-indolilacetic (reactivul 5 *b*); frunzele tratate cresc normal (de dimensiunea celor ale martorului).

Experiența nr. 218

INTENSIFICAREA RESPIRAȚIEI SEMINȚELOR ÎN GERMINAȚIE

Se poate face o comparație între respirația semințelor aflate în repaus și a celor germinate, utilizînd drept indiciu al intensității procesului eliminarea de CO_2 sau ridicarea temperaturii.

a) *Eliminarea bioxidului de carbon la semințele germinate și la cele uscate (U. Ruge).* Se montează instalația din figura 147. În vasul spălător *1* se pune soluție 20% KOH, iar în vasele *2*, *3* și *4*, apă de var limpede (hidroxid de calciu 2—3‰). Tuburile în formă de U conțin: *A* — 100 de boabe de mazăre uscată, *B* — 100 de boabe de mazăre pe

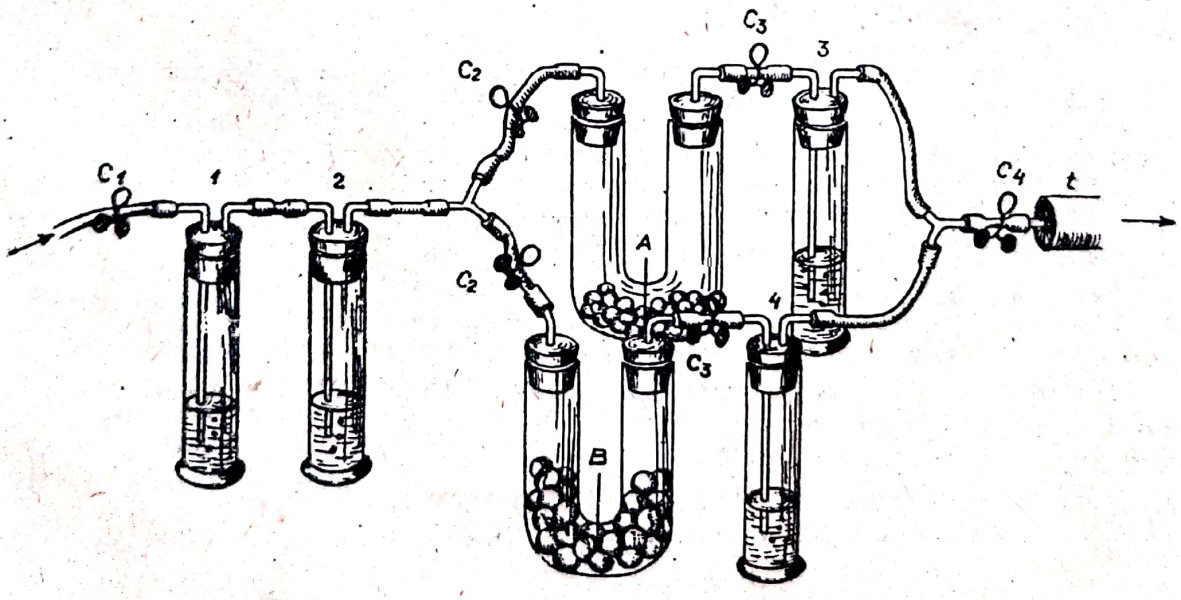


Fig. 147. Instalația pentru dovedirea intensificării respirației semințelor în cursul germinației: *A* — semințe uscate; *B* — semințe germinate; C_1, C_2, C_3, C_4 — cleme; *1* — vas spălător cu soluție 20% KOH; *2*, *3*, și *4* — vase spălătoare cu apă de var; *t* — tub de cauciuc legat de trompa de apă.

cale de germinație (îmbibate timp de 48 de ore). Se închid toate clemele (C_1, C_2, C_3 și C_4) și se lasă timp de o zi.

A doua zi se leagă tubul de cauciuc la trompa de apă, se deschid clemele și se aspiră foarte încet, potrivind clemele C_2 așa încît viteza curentului de aer care străbate dispozitivul de la stînga la dreapta să fie uniformă, adică în vasele spălătoare *3* și *4* să aibă loc barbotarea simultană a bulelor de gaz. Aerul este purificat de CO_2 în vasul spălător cu KOH (*1*), ceea ce se verifică prin faptul că apa de var din al doilea vas spălător (2) rămîne limpede; trecînd peste materialul vegetal din tuburile *A* și *B*, aerul antrenează CO_2 eliminat aici prin respirația semințelor.

Se constată o precipitare abundentă de $CaCO_3$ în vasul spălător *4*, pe cînd în vasul *3* soluția se menține clară, ceea ce dovedește că semințele pe cale de germinație respiră mult mai intens decît cele aflate în stare de repaus.

b) *Degajarea de căldură la semințele germinate.* Respirația deosebit de intensă a semințelor în germinație se traduce la exterior prin degajare de căldură. De aceea, dacă se suprimă pierderea acestei călduri prin închiderea semințelor într-un flacon termos, termometrul din el indică un plus de căldură față de cea a mediului extern. Semințe de mazăre sau cariopse de grîu germinate de 5 zile se pun într-un termos mic și prin dopul de vată care le acoperă se trece un termometru, al cărui rezervor se scufundă în masa de semințe. Se va urmări timp de cîteva zile ridicarea continuă a temperaturii din termos față de cea de control din aer. Nu toată căldura degajată provine din respirația semințelor, ci o parte din ea se datorește catabolismului microbian.

2. CONDIȚIILE MEDIULUI EXTERN NECESARE GERMINAȚIEI SEMINȚELOR

Pentru ca semințele să germineze, este necesar ca trei factori principali din mediul ambiant să aibă valori convenabile: *umiditatea*, *oxigenul* și *temperatura* (v. experiența nr. 219). Întrucît factorul general cauzator al stării de latență este pierderea de apă, germinația este indusă în primul rînd prin cîștig de apă. *Apa* este deci un factor esențial al germinației; ea se absoarbe prin imbibiție și apoi prin forțe osmotice și trebuie să traverseze tegumentele, îmbibînd părțile vii; imbibiția variază cu natura rezervelor din semințe și este influențată de anumiți factori externi (v. experiențele nr. 220 *a—d*). Germinația nu este posibilă fără *oxigen* (v. experiența nr. 221), care, ca și apa, trebuie să străbată tegumentele și să activeze direct asupra părților vii. *Temperaturile* necesare germinației variază cu specia, fiecare plantă prezentînd un optim termic la care acest proces decurge cu cea mai mare rapiditate (v. experiența nr. 222).

Experiența nr. 219

NECESITATEA APEI, AERULUI ȘI CĂLDURII PENTRU GERMINAȚIA SEMINȚELOR. EXPERIENȚA CELOR TREI BOABE DE FASOLE (I. SMALL)

Necesitatea tuturor celor trei factori externi poate fi dovedită punînd semințe la germinat în așa fel încît în cîte o variantă să lipsească unul dintre factori.

Pe un suport de lemn de circa 20 cm lungime și 1,5 cm lățime (fig. 148) se fixează cu ajutorul unor inele tăiate din tub de cauciuc 3 boabe uscate de fasole *(Phaseolus vulgaris)* sau de bob *(Vicia faba* var. *major)*, cîte unul la fiecare capăt (*1*, *3*) și altul la mijloc (*2*). Suportul cu semințele se așază într-un pahar Berzelius, în care se pune apă fiartă și răcită, așa ca bobul din mijloc să fie scufundat pe jumătate. Experiența se montează în două exemplare care se păstrează 1—2 săptămîni: I — într-un loc cald și luminos, II — la temperatură scăzută (de exemplu, într-un vas cu gheață).

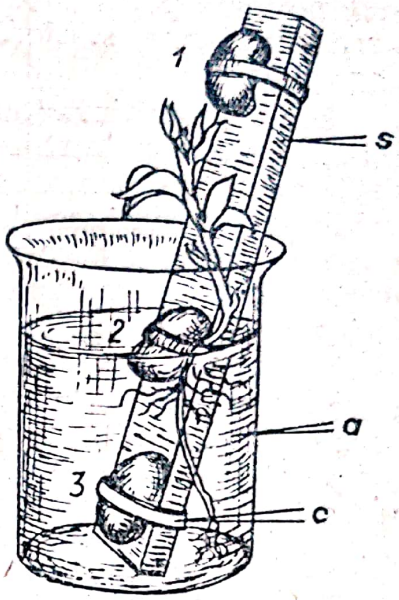


Fig. 148. Experiența celor trei boabe de fasole :
s — suport de lemn; *a* — apă fiartă și răcită; *c* — inel de cauciuc (după J. Small).

În I, bobul din aer (*1*) n-a germinat, deși a dispus de oxigen și de căldură, pentru că i-a lipsit umezeala. Cel de sub apă (*3*), aflîndu-se în condiții de umiditate și căldură suficiente, s-a îmbibat și a încolțit, însă după consumarea puținului aer introdus cu sămînța, germinația nu a mai continuat, datorită lipsei oxigenului. Numai sămînța de la nivelul apei *(2)*, unde se întrunesc toate trei condițiile, adică apă destulă, oxigen și căldură, germinează și dă o plantulă viguroasă. În II, nu germinează nici sămînța de la mijloc, datorită lipsei căldurii.

Experiența nr. 220

ABSORBȚIA APEI ÎN PROCESUL DE GERMINAȚIE

a) *Cantitatea de apă absorbită de diversele categorii de semințe. Gradul de imbibiție și mersul imbibiției.* Ca măsură a gradului de imbibiție servește cantitatea de apă pe care au absorbit-o, la temperatura camerei, semințele saturate cu apă, raportată la 100 g de sămînță uscată. Se urmărește comparativ imbibiția la trei categorii de semințe, care se deosebesc prin natura chimică a rezervelor predominante, amidon, grăsimi, respectiv substanțe proteice: *a*) semințe amilacee (porumb, grîu, secară); *b*) oleaginoase (floarea-soarelui, cînepă); *c*) azotoase (mazăre, fasole, lupin, bob). Dacă se experimentează cu semințe mari (porumb, floarea-soarelui și mazăre), se formează loturi din număr egal de boabe (de exemplu, cîte 30 de bucăți din fiecare); pentru semințe mici se cîntăresc cantități egale (cîte 10 g).

Se stabilește greutatea exactă a fiecărui lot de semințe în stare uscată și se pune la îmbibat, în pahare acoperite, fiecare lot separat. Pentru a se ajunge la imbibiția maximă, semințele trebuie să fie umec-

tate pe toate părţile; de aceea, se scufundă complet în apă; astfel, deşi germinaţia este stînjenită din cauza lipsei oxigenului, imbibiţia se accentuează.

Din timp în timp (după 1, 2, 4, 8, 12, 24 şi 48 de ore), seminţele se scot, se şterg cu hîrtie curată de filtru (pe care o utilizăm o singură dată, ca să nu punem seminţele în contact cu substanţe ce modifică imbibiţia), se cîntăresc imediat, apoi se pun din nou în apă. Cînd greutatea se menţine aproape constantă, seminţele sînt saturate. Se calculează cîte grame de apă a absorbit fiecare categorie de seminţe ajunse la imbibiţia maximă, apoi se exprimă în procente din greutatea iniţială. Toate rezultatele se consemnează într-un tabel (tabelul 21) şi se construieşte un grafic în care pe ordonată se înscrie sporul seminţelor în greutate (greutăţile, în grame sau în procente din greutatea iniţială), iar pe abscisă, timpul (durata imbibiţiei, în ore). Cele 3 curbe oglindesc mersul imbibiţiei la cele 3 categorii de seminţe.

Tabelul 21

Gradul de imbibiţie al diverselor categorii de seminţe

Temperatura . . . . . °C

Seminţe	Greutatea seminţelor uscate g	Greutatea seminţelor după imbibiţie, în g							Diferenţa (g apă absorbită de seminţe la imbibiţia maximă)	Apă absorbită %
		durata în ore								
		1	2	4	8	12	24	48		
a) Amilacee *Zea mays*	...	...	..	..	..	..	..	..	...	...
b) Oleaginoase *Helianthus annuus*	...	...	..	..	..	..	..	..	...	...
c) Azotoase *Pisum sativum*	...	...	..	..	..	..	..	..	...	...

Se constată că seminţele diferitelor plante absorb cantităţi inegale de apă, după capacitatea de imbibare a substanţelor de rezervă pe care le conţin, şi că diversele seminţe nu îşi ating deodată imbibiţia maximă. În ordinea crescîndă a gradului de imbibiţie, seminţele se situează astfel: amilacee, oleaginoase, azotoase.

Importanţa gradului de imbibiţie în declanşarea germinaţiei (Ruge U.). Procentul de apă, raportat la greutatea substanţei uscate, pe care trebuie să-l conţină sămînţa pentru a germina nu este acelaşi la diferitele plante. Se experimentează comparativ cu seminţe de mei *(Panicum miliaceum)*, grîu (*Triticum* sp.) şi mazăre *(Pisum sativum)* îmbibate cu cantităţi diverse de apă. Folosind procedeul descris în experienţa precedentă, se află cît timp trebuie să stea în apă categoriile de seminţe cu care experimentăm (la anumită temperatură) pentru a absorbi 30,60, respec-

Scanned with OKEN Scanner

tiv 100% apă. Pe baza acestor date se pun semințele la îmbibat și se întrerupe imbibiția cînd conțin următoarele procente de apă:

	I	II	III
mei	30%	—	—
grîu	30%	60%	—
mazăre	30%	60%	100%

Deci se lucrează cu 6 variante. Cele 6 grupe de semințe astfel îmbibate se pun să germineze la cald, în cutii Petri, acoperite (vasele să fie uscate, nu se pune nici apă, nici hîrtie de filtru).

Se numără semințele germinate după 5 și 8 zile și datele se trec în tabelul 22.

Tabelul 22

Importanța gradului de imbibiție în declanșarea germinației

Lotul	Conținut în apă %	Semințe %	% semințelor germinate după	
			5 zile	8 zile
I	30	mei	...	...
		grîu	...	...
		mazăre	...	...
II	60	grîu	...	...
		mazăre	...	...
III	100	mazăre	...	...

Se constată că grîul și mazărea din lotul I (cu 30% apă) nu germinează; acest procentaj de apă este suficient numai pentru germinarea meiului. Grîul începe să germineze cînd conține 60%, iar mazărea abia după ce a absorbit 100% apă.

b) *Creșterea volumului semințelor prin imbibiție. Experiență demonstrativă* (R. Kolkwitz). În două flacoane de aceeași mărime se pun, pînă la jumătate, cantități egale de boabe uscate de mazăre sau fasole. În unul dintre flacoane, semințele se acoperă cu apă distilată puțin încălzită (40°C); ele își dublează volumul prin imbibiție (fig. 149).

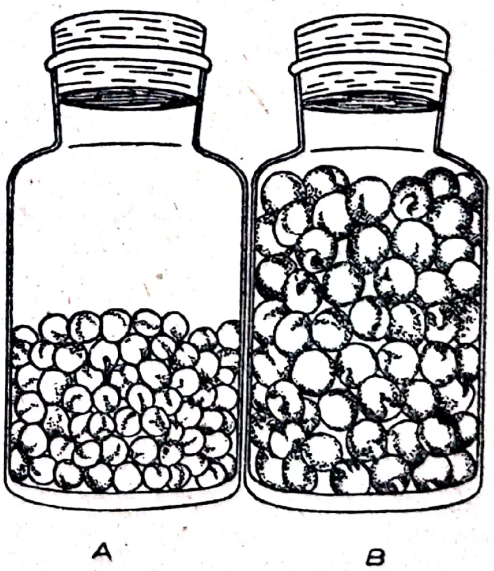


Fig. 149. Creșterea volumului aceluiași număr de semințe prin imbibiție: *A* — semințe uscate; *B* — semințe îmbibate (după R. Kolkwitz).

Determinarea cantitativă. Se află sporul în volum al diferitelor categorii

de semințe (amilacee, oleaginoase, azotoase; v. experiența nr. 220, *a*) la imbibiția maximă, evaluînd volumul a două loturi de semințe identice de aceeași greutate (de exemplu, 10 g): *a)* uscate, *b)* îmbibate în apă timp de 24 de ore. Volumul se determină prin metoda deplasării unei cantități cunoscute de lichid indiferent (care nu ia și nici nu dă apă: xilol, benzol), într-un cilindru gradat. Valoarea aflată se exprimă în procente din volumul inițial, adică din volumul semințelor uscate. Sporul volumului, în mililitri, corespunde celui al greutății, în grame (tabelul 23).

Tabelul 23

Creșterea volumului semințelor prin imbibiție

Temperatura . . . °C

Semințe	Greutatea g	Volumul semințelor, în ml		Sporul volumului, în %, din volumul inițial
		uscate	după imbibiție de 24 ore	
a) Amilacee	...	...	...	...
b) Oleaginoase	...	...	...	...
c) Azotoase	...	...	...	...

Presiunea exercitată de semințele care își măresc volumul prin imbibiție. Puterea de imbibiție a semințelor și marea energie pe care o dezvoltă cu această ocazie poate fi demonstrată făcîndu-le să se îmbibe într-un spațiu limitat, închis. O sticluță pentru medicamente de 100—150 ml se umple complet cu boabe uscate de mazăre și se scufundă, deschisă într-un vas cu apă distilată de 40°C. În locul aerului dintre boabe pătrunde apa caldă. După cîteva ore se observă că, prin mărirea volumului, semințele s-au deformat, umplînd tot spațiul dintre ele, iar după mai mult timp (8—24 ore), datorită presiunii de mai multe atmosfere, dezvoltată prin îmbibarea substanțelor organice (aici mai ales din membrane și grăunciorii de amidon), sticla se sparge, cu un pocnet puternic. Se recomandă ca de la început sticla să fie cuprinsă în mai multe legături de sfoară tare, care să mențină laolaltă cioburile, sau să fie așezată într-o cutie de tablă. În modul acesta, sămînța care se îmbibă rupe tegumentul rezistent și poate sfărîma mici bulgări de pămînt.

Presiunea de imbibiție a semințelor se poate evalua (după Brauner—Bukatsch) cu ajutorul unei instalații improvizate simple, reprezentată schematic în figura 150. Pe o balanță de bucătărie, cu arc (cu un singur taler și săgeată arătătoare mobilă), se așază o cutie de conserve din tablă, în care se pun semințe uscate de mazăre. Peste semințe se introduce un flacon din sticlă rezistentă, cu diametrul ceva mai mic decît al cutiei de tablă; aceasta va servi drept contraforță. Gîtul sticlei se fixează bine cu clema unui stativ, pe care stă balanța. Prin spațiul dintre sticlă și cutie se scurge apă căldicică peste semințe. În urma

îmbibării seminţelor, se va observa deplasarea indicatorului balanţei, care va arăta o presiune de imbibiţie de mai multe kilograme.

c) *Observarea la microscop a îmbibării seminţelor.* Se examinează la microscopul cu măritor slab secţiuni uscate subţiri din seminţe de lupin *(Lupinus albus)* şi de in *(Linum usitatissimum)*. În cursul observării se face să pătrundă apă sub lamelă. La parenchimul cotiledoanelor de lupin îmbibate se vede întinderea membranelor şi umflarea conţinutului celular, iar la seminţele de in se observă umflarea foarte puternică a membranelor externe ale celulelor epidermice din tegumentul seminal. Se poate urmări mai bine modificarea volumului celulelor prin imbibiţie examinînd comparativ unele secţiuni în apă, iar altele în ulei de parafină, care nu îmbibă.

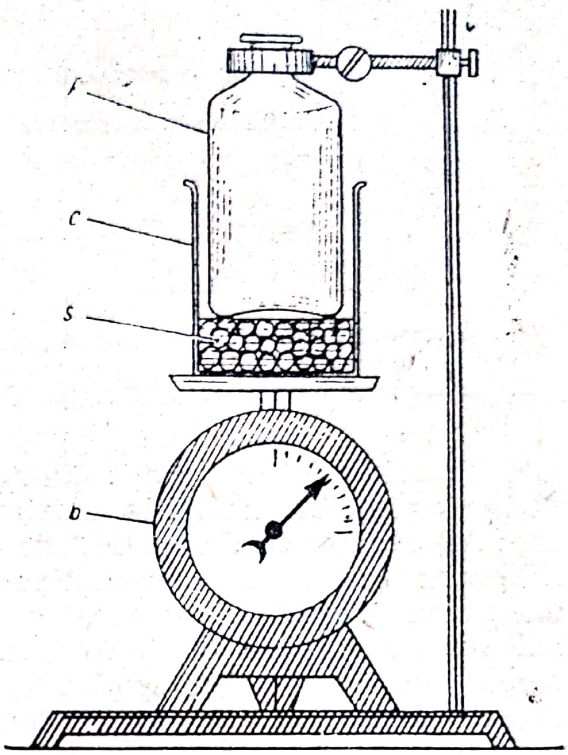


Fig. 150. Determinarea presiunii de imbibiţie : *f* — flacon de sticlă; *c* — cutie de metal; *s* — seminţe de mazăre cu apă; *b* — balanţă (după L. Brauner — F. Bukatsch).

d) *Efectul temperaturii asupra imbibiţiei seminţelor.* Viteza imbibiţiei seminţelor depinde de temperatură. Pentru a demonstra aceasta se formează 3 serii de cîte 30 g de boabe uscate de mazăre *(Pisum sativum)* sau lupin *(Lupinus albus)* şi se îmbibă: I în apă rece de 10—14°C (recipientul cu seminţele se răceşte la curentul de apă de conductă, folosind dispozitivul din figura 151; trebuie să se regleze astfel ieşirea apei din robinet, încît să fie egală cu viteza scurgerii prin sifon); II în apă la temperatura camerei, 20—21°C; III în apă caldă de 37—38°C (în baie de apă sau termostat).

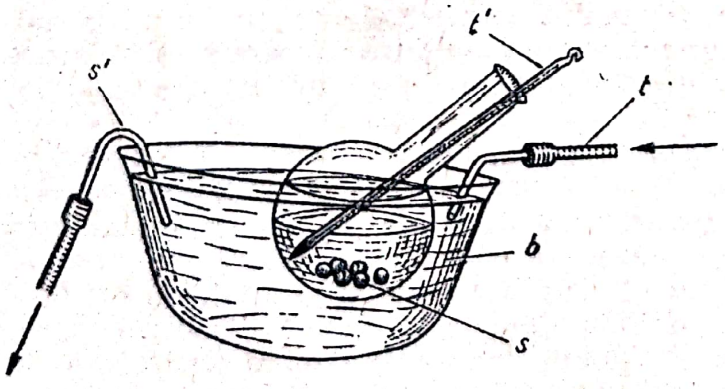


Fig. 151. Răcirea cu apă de la robinet : *s'* — sifon; *t* — tub de cauciuc, legat cu robinetul de apă; *t* — seminţe în apă; *t'* — termometru; *b* — baia de apă (după P. I. Woskresenski, modificat).

După diferite intervale de timp (de exemplu, 2, 12, 24, 72, 120 de ore), seminţele se scot din apă, se şterg cu hîrtie de filtru, se cîntăresc şi apoi se pun din nou în apă, ca să continue îmbibarea. Datele se consemnează într-un tabel (tabelul 24).

Se constată că gradul de imbibiţie al seminţelor nu se schimbă cu temperatura, însă ele ajung la imbibiţia maximă mai re-

Tabelul 24

Efectul temperaturii asupra imbibiției semințelor de

Greutatea inițială (semințe uscate) a unui lot . . . . . g

Variante	Greutatea semințelor îmbibate, durata, în ore				
	2	12	24	72	120
I la temperatura . . . . °C	...	...	...	...	...
II la temperatura . . . . °C	...	...	...	...	...
III la temperatura . . . . °C	...	...	...	...	...

pede la cald decît la rece; căldura favorizează imbibiția, deci și germinația semințelor. Imbibiția maximă se atinge la lotul I (temperatură scăzută) abia după 5 zile (120 de ore), cînd semințele din loturile II și III prezintă alterări în urma ținerii îndelungate sub apă și a atacului microbian. Rezultatele cifrice se exprimă grafic construind pe hîrtie milimetrică 3 curbe (I, II, III, pentru cele 3 temperaturi diferite) care redau variația greutății semințelor raportată la timp (pe abscisă se notează timpul de la 0 la 120 de ore, iar pe ordonată greutatea semințelor, în grame).

Experiența se poate executa într-o variantă simplificată și de scurtă durată: 2 loturi de cîte 30 g de mazăre uscată se țin la îmbibat, unul în apă de 10—14°C, răcită la apa curgătoare de conductă, celălalt într-o baie de apă de 26°C. După 2 ore se compară greutatea celor două loturi și se constată că semințele de la cald au absorbit mai mult decît dublul cantității de apă în comparație cu cele de la rece.

Experiența nr. 221

NECESITATEA OXIGENULUI ÎN PROCESUL DE GERMINAȚIE

Pentru demonstrarea rolului esențial al oxigenului în germinație, comparăm comportamentul semințelor puse la germinat (în umezeală și căldură) într-un spațiu lipsit de oxigen cu cel al semințelor ținute în atmosferă normală.

a) *Semințele nu germinează în absența oxigenului* (U. Ruge). Boabe de grîu (*Triticum* sp.) sau de ovăz *(Avena sativa)* se infiltrează cu apă la trompa de vid, apoi se împart în două și se pun la germinat: I în lipsa oxigenului, II în mediu aerat. Încercarea germinației în absența oxigenului (I) se poate realiza: *a)* acoperind semințele dintr-un cristalizor cu un strat de 4—5 cm înălțime apă fiartă și răcită, peste care se toarnă ulei de parafină, sau *b)* punînd semințele pe hîrtie umedă de filtru în cutie Petri așezată într-un recipient închis, în care se găsește un mic pahărel cu soluție alcalină de pirogalol (reactivul 51), care absoarbe oxigenul. Cariopsele din seria II se scufundă numai pînă la

jumătate în apă, restul lăsîndu-se în contact cu aerul; peste cristalizor sau cutia Petri se pune un capac care permite accesul aerului la semințe.

Peste 4—6 zile se stabilește procentul semințelor germinate în ambele serii, consemnîndu-se datele în tabelul 25.

Tabelul 25

Semințele nu germinează în absența oxigenului

Semințe de . . . . . Temperatura . . . . . °C

Variante	Nr. semințe puse la germinat	Nr. semințe germinate după . . . zile	% semințe germinate
Lot I în mediu fără oxigen	. . .	. . .	. . .
Lot II în mediu cu oxigen	. . .	. . .	. . .

Se află că deficiența oxigenului are ca efect împiedicarea germinației.

O experiență sugestivă care demonstrează necesitatea oxigenului în germinație este cea propusă de *L. Brauner—F. Bukatsch:* în două flacoane pentru pulbere, de circa 200 ml, se atîrnă cu sîrmă, de dopuri, cîte un ghem de vată umedă, care a fost rostogolit în semințe de creson *(Lepidium sativum)* (fig. 152). Acestea aderă la vată cu mucilagiile pe care le emit prin îmbibare și își trag de aici apa necesară pentru germinație. În primul flacon se găsește oxigen, căci pe fundul lui s-a pus un strat de apă. În al doilea, atmosfera este lipsită de oxigen, pentru că aici se găsește un absorbant al acestui gaz: un strat de soluție de NaOH 10%, în care s-a adăugat o linguriță de pirogalol. După citeva zile, în flaconul cu oxigen se observă plantulele germinate care ies din ghemul de vată, pe cînd în recipientul fără oxigen germinația nu are loc.

Necesitatea oxigenului o dovedește și experiența celor trei boabe de fasole (v. experiența nr. 219). Datorită nevoii de oxigen, semințele nu germinează în profunzimea solului, nici în apele stagnante; germinația lor este favorizată în solul aerat; germinatoarele folosite în laborator trebuie prevăzute cu orificii de aerisire.

b) *Semințele diverselor plante necesită cantități diferite de oxigen* (V. A. Tetiurev). Cîte 20 de cariopse de orz (*Hordeum* sp.) și de orez *(Oryza sativa)* se pun separat în două pahare Berzelius pline cu apă, se acoperă cu plăci de sticlă și se țin la căldură și lumină. Apa se primenește din timp în timp. În 10—12 zile, semințele de orez germinează, dovadă că sînt mai puțin exigente și se mulțumesc cu puținul oxigen dizolvat în apă. Cele de orz, mai pretențioase la oxigen, nu germinează sub apă și curînd sînt atacate de microorganismele de putrefacție. În locul orezului se poate experimenta și cu timoftică *(Phleum*

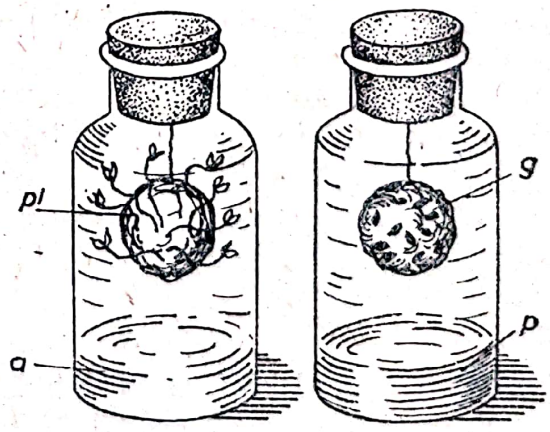


Fig. 152. Împiedicarea germinației semințelor în lipsa oxigenului:
g — ghem de vată cu semințe; *pl* — plantule; *a* — apă; *p* — pirogalol cu NaOH (după L. Brauner — F. Bukatsch).

pratense), ale cărei seminţe, de asemenea, reclamă oxigen puţin şi pot germina sub apă. În cazul acesta se aşterne un strat subţire de nisip pe fundul paharului, iar seminţele se freacă sub apă între degete pentru a le face să cadă.

Experienţa nr. 222

TEMPERATURA DE GERMINAŢIE A SEMINŢELOR

a) Efectul temperaturii asupra germinaţiei seminţelor se poate observa urmărind germinarea la 3 loturi de seminţe identice menţinute la temperaturi deosebite.

Se umplu 3 ghivece mari sau lădiţe de lemn cu un amestec de nisip şi turbă. În fiecare se seamănă 10 seminţe îmbibate de mazăre *(Pisum sativum)* sau fasole *(Phaseolus vulgaris)* şi se aşază: *a)* la 10—15°C (afară, cînd este cazul, în frigider sau în răcitorul cu apă curgătoare din figura 151); *b)* la 25—30°C (în apropierea sobei, în termostat sau pe un trepied sub care arde flacăra mică a unei lămpi cu spirt); *c)* la 35—40°C (în termostat sau la încălzire cu lampă de spirt). Se menţine mereu umiditatea substratului şi se controlează temperaturile din interiorul său.

Să se precizeze dacă seminţele germinează în toate 3 loturile sau nu, precum şi timpul (în zile) necesar pentru germinaţie în fiecare caz. Se constată că există o temperatură minimă (cea mai scăzută la care are loc germinaţia), maximă (cea mai ridicată peste care sămînţa nu mai germinează) şi *optimă* (la care germinaţia are loc în cel mai scurt timp).

b) Se experimentează comparativ cu două categorii de seminţe: de plante *rezistente la frig* (grîu, secară, orz, ovăz — *Lepidium sativum)* şi de plante *termofile* (castraveţi, pepene, dovleac). Seminţele se pun la germinat pe hîrtie de filtru în cutii Petri, în 2 serii din fiecare categorie: I la temperatura de 3—5°C, II la 15—19°C.

Se menţin umiditatea substratului şi temperaturile constante, iar din 3 în 3 zile se compară viteza de germinaţie şi numărul seminţelor germinate la cele două categorii. Se ajunge la concluzia că cerealele şi *Lepidium* germinează la temperaturi scăzute, pe cînd cucurbitaceele reclamă temperaturi înalte pentru germinaţie.

Pentru stabilirea precisă a punctelor cardinale ale temperaturii de germinaţie a diverselor seminţe — care sînt dependente de specie — se urmăreşte germinaţia pe probe puse în termostate la serii de temperaturi din 5 în 5°C, cuprinse între 0 şi 60°C. Cunoaşterea temperaturii de germinaţie este necesară pentru alegerea celui mai potrivit timp de semănare, precum şi pentru a şti la ce temperatură trebuie să se ţină în laborator seminţele pentru determinarea facultăţii lor germinative sau pentru cultivarea plantelor de experienţă.

3. CAUZELE CARE ÎMPIEDICĂ GERMINAŢIA SEMINŢELOR ŞI METODELE DE STIMULARE A GERMINAŢIEI

Pentru ca sămînţa să germineze trebuie să pătrundă apă în părţile ei vii. Această condiţie este însă greu de realizat la seminţele cu *tegument impermeabil;* rezistenţa acestor tegumente se poate învinge pe cale mecanică sau chimică (v. ex-

perienta nr. 223). Sămînța absoarbe apă, întîi prin imbibiție, apoi prin forțe osmotice; de aceea, germinația poate fi oprită prin *contraforțe osmotice înalte* (v. experiența nr. 224). În multe fructe și semințe există *substanțe inhibitoare ale germinației* (v. experiența nr. 225), iar procesul nu poate începe decît după distrugerea sau spălarea lor, după anularea efectului lor fiziologic. La unele semințe, germinația este condiționată de acțiunea *luminii* sau a *întunericului* (v. experiența nr. 226). În fine, unii stimulenți pot scurta perioada de postmaturație: semințele multor plante nu germinează decît după ce au fost *expuse la frig* (v. experiența nr. 227); la altele, dimpotrivă, germinația este stimulată prin *căldură* (v. experiența nr. 228).

Experiența nr. 223

IMPERMEABILITATEA TEGUMENTULUI SEMINAL

a) Semințele plantelor din familiile leguminoase și malvacee conțin un număr mare de „semințe tari", cu tegumentul impermeabil pentru apă și oxigen. Existența lor se poate dovedi astfel (F. Darwin—H. Acton):

Se pun 100 de boabe de măzăriche *(Vicia sativa)* sau de lupin într-un cristalizor mare cu 1 l de apă de conductă. După 24 de ore se constată că majoritatea și-au mărit volumul, deci s-au îmbibat; o mică parte însă (semințe care se recunosc după micimea lor) au rămas neîmbibate; se îndepărtează din vas și se primenește apa; se repetă operația la intervale de 12 ore, notînd de fiecare dată numărul semințelor nou îmbibate.

Se demonstrează că tegumentele sînt cauza împiedicării imbibiției într-o experiență paralelă cu același număr de semințe: după primul interval de 24 de ore, se scot semințele neîmbibate și se împart în 2 grupe egale: la seria I se înțeapă tegumentul cu un ac spatulat sau se crestează cu o lamă, de partea opusă embrionului, iar la II se lasă intacte. Toate se pun din nou în apă. Se va constata că în decurs de 12 ore toate semințele din I se îmbibă, pe cînd cele din seria II nu se îmbibă decît o parte.

b) Împiedicarea germinației, datorită structurii tegumentelor seminale, se poate dovedi și astfel (L. Machlis): cîte 20 de bucăți semințe de sulfină *(Melilotus officinalis)*, lucernă *(Medicago sativa)* sau măzăriche *(Vicia sativa)* se pun la germinat pe hîrtie umedă de filtru, în cutii Petri, la 25°C și întuneric, în 2 variante: I semințe intacte, II semințe la care s-a crestat și s-a îndepărtat o mică porțiune din tegumentul seminal, dezvelind țesuturile interne. După 24 de ore se compară procentajul semințelor germinate din ambele serii.

Tratamentele prin care se rupe sau se slăbește tegumentul seminal („scarificare") permit penetrarea apei și a oxigenului, în consecință declanșarea germinației. Lezarea semințelor se poate executa pe cale mecanică, prin frecarea semințelor între două plăci de lemn căptușite cu glaspapir, punînd o greutate pe scîndura superioară, sau prin tratament cu chimicale: scufundarea cîteva minute în H_2SO_4 concentrat ($d = 1{,}84$), apoi spălarea cu apă. În natură, lezarea tegumentului se face prin alternarea imbibării cu desimbibarea, a înghețului cu dezghețul, prin abraziunea cu nisip sau prin activitate

microbiană. Permeabilitatea scăzută a tegumentelor seminale este o adaptare prin care se evită germinarea prea timpurie a semințelor căzute pe pămînt umed sau antrenate de apă; ea favorizează și longevitatea semințelor.

Experiența nr. 224

INFLUENȚA VALORII OSMOTICE A MEDIULUI ASUPRA ABSORBȚIEI APEI ÎN SEMINȚE

Concentrația soluției externe influențează absorbția apei de către semințe: cu cît valoarea osmotică a acestei soluții este mai mare, cu atît absorbția se face mai greu. Aceasta se poate dovedi cómparînd sporul în greutate al semințelor cînd se îmbibă în apă pură cu sporul pe care îl prezintă cînd se pun în soluții de diferite concentrații.

a) *Absorbția în apă și în soluție de NaCl.* Se cîntăresc 2 serii de cîte 30 g de semințe uscate de mazăre *(Pisum sativum):* I se pune în apă, II în soluție de NaCl 10%. Ambele se păstrează 2 ore la temperatura de 18—20°C, apoi se scot, se șterg cu hîrtie de filtru și se cîntăresc din nou. Se calculează sporul în greutate pentru fiecare serie și procentajul apei reținute, consemnîndu-se în tabelul 26. Se află un spor mai mic al greutății semințelor îmbibate în soluția salină decît în apă.

Tabelul 26

Absorbția în apă și în soluții saline

Semințe de . . . . . .

Greutatea semințelor uscate . . . . . g

Temperatura . . . . . °C

Variante / Indici	I în apă	II în soluție de NaCl 10%
Greutatea, în g, după . . . . ore	...	...
Apa absorbită, în g	...	...
Apa absorbită, în %	...	...

b) *Absorbția în apă și în soluții de zaharoză de concentrații diferite.* În 4 cutii Petri se pun cantități egale din următoarele lichide: I apă distilată, II soluție 0,25 *M* zaharoză (reactivul 73 *f*), III soluție 1 *M* zaharoză (reactivul 73 *c*), IV soluție 2 *M* zaharoză (reactivul 73 *a*). În fiecare se îmbibă timp de 48 de ore, la temperatura de 18—20°C, cîte 5 g de cariopse de grîu (*Triticum* sp.). După acest timp se scot, se șterg cu hîrtie de filtru, se cîntăresc și se calculează cîte grame de apă au absorbit, precum și % apei absorbite în cazul fiecărui lot. Se calculează absorbția relativă a apei în cele trei soluții de zaharoză (II, III, IV).

Scanned with OKEN Scanner

raportînd-o la imbibiţia seminţelor în apă distilată (I), pe care o considerăm egală cu 100 (tabelul 27).

Tabelul 27

Absorbţia în apă şi în soluţii de zaharoză

Seminţe de . . . . . .
Greutatea seminţelor uscate . . . . . g
Temperatura . . . . . °C

Variante / Indici	În apă I	În soluţie de zaharoză 0,25 M II	1 M III	2 M IV
Greutatea după 48 ore	...	...	...	...
Apa absorbită, în g	...	...	...	...
Apa absorbită, în %	...	...	...	...
Absorbţia relativă, în %	100	...	...	...

Se observă că soluţiile de zaharoză îngreuiază absorbţia apei în seminţe proporţional cu concentraţia. Deci germinaţia seminţelor poate fi împiedicată în mediile cu presiune osmotică mare (importanţă ecologică pentru germinarea seminţelor de halofite).

Experienţa nr. 225

SUBSTANŢE INHIBITOARE ALE GERMINAŢIEI

a) *Substanţe inhibitoare din carnea fructului.* Se pun la germinat în 2 cutii Petri cîte 20—30 de seminţe uscate de creson *(Lepidium sativum)* sau muştar alb *(Sinapis alba): a)* direct pe hîrtie umedă de filtru; *b)* pe o felie de fruct de măr, gutuie, pară, lămîie sau roşie, aşezată peste hîrtia de filtru. Se acoperă şi se lasă la loc cald, menţinîndu-se umiditatea mai multe zile (6—10), după care se numără şi se calculează procentajul seminţelor germinate în fiecare variantă (tabelul 28).

Se constată că pe carnea fructului germinaţia este puternic inhibată.

Tabelul 28

Substanţe inhibitoare din carnea fructului

Seminţe de . . . . . .
Temperatura . . . . . °C Durata experienţei . . . . . zile

Tratament	Nr. seminţelor puse la germinat	Nr. seminţelor germinate	% seminţelor germinate
Seminţe pe hîrtie de filtru	...	...	...
Seminţe pe fruct de	...	...	...

Efectul de inhibare al sucului de fructe asupra germinației poate fi demonstrat (după *Brauner—Bukatsch*) astfel: se prepară suc presînd printr-o pînză fructe mărunțite de roșii sau de mere și i se determină pH-ul cu hîrtie indicator universal. În 2 cutii Petri se pun la germinat semințe de *Lepidium sativum:* I pe hîrtie de filtru umectată cu suc de fructe, II (martor) pe hîrtie de filtru umectată cu apă de conductă căreia i s-a adăugat atîta H_2SO_4 diluat cît este necesar pentru ca să aibă același pH ca sucul de fructe. În cîteva zile se constată inhibarea germinării semințelor în prezența sucului de fructe (acțiunea blastocolinei).

b) *Substanțe inhibitoare din endosperm.* Se poate obține o germinație imediată la măr prin îndepărtarea unor anumite părți ale seminței. Un număr de 30 de semințe coapte de măr, îmbibate în apă 2 zile, se repartizează în 3 grupe de cîte 10 bucăți și se pun la germinat pe hîrtie de filtru umectată cu apă de conductă, în 3 cutii Petri: *a)* semințe intacte; *b)* semințe cărora li s-a înlăturat tegumentul seminal (coaja brună) cu ajutorul unui ac spatulat, fără să se lezeze embrionul și lăsînd intact endospermul (pielița albă care învelește cotiledoanele); *c)* semințe lipsite atît de tegument cît și de endosperm, adică embrioni izolați. Se mențin acoperite cu apă, la temperatura camerei și lumină (dar nu în lumină solară directă) timp de 5—6 zile, după care se numără și se calculează procentajul semințelor germinate din fiecare grupă (tabelul 29).

Tabelul 29

Substanțe inhibitoare din endosperm

Semințe de măr

Temperatura . . . . °C Durata experienței . . . . . zile

Tratament		Nr. semințelor puse la germinat	Nr. semințelor germinate	% semințelor germinate
a) Nepreparate	+ tegument + endosperm	...	...	...
b) Semințe	− tegument + endosperm	...	...	...
c) Semințe	− tegument − endosperm	...	...	...

Se află că din *a* nu germinează nici o sămînță; în *b* procentajul semințelor germinate este redus și procesul puțin avansat, pe cînd în *c* semințele germinează în procent mare, plantulele au radicula lungă și cotiledoanele înverzite (fig. 153).

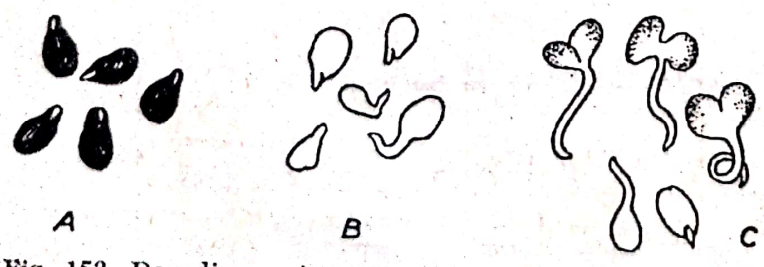


Fig. 153. Dovedirea existenței substanțelor inhibitoare ale germinației în endospermul semințelor de măr:
A — semințe nepreparate; *B* — semințe cu endosperm și fără tegument; *C* — semințe fără tegument și fără endosperm.

Deci endospermul semințelor de măr are acțiune inhibitoare asupra germinației.

c) Efectul unor substanțe gazoase (uleiuri eterice) asupra germinației (Brauner—Bukatsch). Într-o serie de

flacoane de ¼ l, cu gîtul larg și astupate cu dopuri care închid bine, se pun la germinat semințe de creson *(Lepidium sativum)*, pe cîte un ghem de vată umedă, care atîrnă, la capătul unei sîrme prinse de dop, în spațiul închis din flacon (v. experiența nr. 221, *a* și fig. 152). Fundul fiecărui flacon se acoperă cu bucăți de material vegetal bogat în uleiuri eterice (cu miros puternic), ca: frunze de mărar *(Anethum graveolens)*, de roiniță *(Melissa officinalis)*, de virnanț *(Ruta graveolens)*, de frăsinel *(Dictamnus albus)*, de asmățui *(Anthriscus cerefolium)*, de leuștean *(Levisticum officinale)* etc., sau cu fragmente de coji de portocală, de lămîie, bulb de ceapă mărunțit, răzătură proaspătă de hrean ș.a. Într-unul dintre flacoane se găsește apă în loc de material vegetal (control). Într-o pereche de flacoane cu răzătură de hrean se pun să germineze, în unul semințe de creson, în celălalt de in *(Linum usitatissimum)*.

Seria de recipiente se așază într-un loc cald și se urmărește germinația timp de cîteva zile. Pe cîtă vreme în vasul cu apă semințele germinează și plantulele cresc bine, în flacoanele cu uleiuri eterice germinația, creșterea plantulelor și înverzirea lor este mai mult sau mai puțin inhibată. Semințele diverselor specii de plante nu reacționează la fel față de același ulei eteric; inhibarea germinației este mult mai accentuată la in decît la creson, în prezența hreanului.

Experiența nr. 226

INFLUENȚA LUMINII ASUPRA GERMINAȚIEI SEMINȚELOR

a) Semințele multor plante sînt fotosensibile, lumina influențează germinația lor fie favorizînd, fie inhibînd procesul; altele sînt indiferente la acțiunea luminii.

Se pun la germinat în cutii Petri pe hîrtie de filtru cîte 100 de semințe proaspăt recoltate, în 2 serii paralele: o serie la lumină, cealaltă la întuneric. Se experimentează comparativ cu 3 categorii de semințe:

— semințe la care lumina are efect stimulator: *Nicotiana tabacum, Lobelia inflata, Viscum album, Epilobium hirsutum, Oenothera biennis*;

— semințe a căror germinație este inhibată prin lumină: *Cucurbita pepo, Phacelia tanacetifolia, Veronica bizantina, Prenanthes purpurea, Amaranthus caudatus*;

— semințe indiferente față de acțiunea luminii: *Triticum, Panicum miliaceum, Linum usitatissimum*.

Aranjarea în germinatoare se face în camera obscură, la lumină slabă roșie, după care seriile destinate cultivării la întuneric se lasă aici, iar celelalte se trec la lumină de zi. După 3 zile și după o săptămînă sau din 3 în 3 zile se stabilește numărul semințelor germinate și în final se calculează procentajul lor, trecînd rezultatele în tabelul 30.

b) Efectul luminii asupra germinației depinde de temperatură. Semințe de *Amaranthus* sau *Physalis*, care se află pe la mijlocul perioadei de postmaturație, se pun la germinat în 4 cutii Petri: două la temperatura de 10—15°C, celelalte două la 35—40°C. Din fiecare pereche de cutii,

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 30

Efectul luminii asupra germinației semințelor

Planta	Condiții de lumină	Numărul semințelor germinate, durata, în zile						% semințelor germinate
		3	6	9	12	15	20	
Nicotiana	lumină	...	...	...	...	..	...	...
	întuneric	...	..	...	...	...	...	...
Cucurbita	lumină	...	...	...	...	...	...	...
	întuneric	...	...	...	...	...	...	...
Triticum	lumină	...	...	...	...	...	...	...
	întuneric	...	...	...	...	...	...	...

cîte una se expune la lumină, iar cealaltă se păstrează la întuneric. Rezultatele arată că lumina favorizează germinația acestor semințe la căldură, însă o inhibă la frig.

Experiența nr. 227

STIMULAREA GERMINAȚIEI PRIN TRATAREA SEMINȚELOR CU TEMPERATURI SCĂZUTE

În 7 cutii Petri se așază pe hîrtie de filtru cîte 100 de cariopse de cereale proaspăt recoltate. În primele 4 se umectează hîrtia de filtru cu cîte 5 ml de apă. Celelalte 3 se lasă uscate, urmînd să fie umectate numai după expunerea la frig. Prima cutie se trece, imediat, direct, într-un termostat la 20—24°C, iar celelalte 6 se supun tratamentului cu frig diverse intervale de timp, și anume: cîte o pereche, adică una cu semințe îmbibate, iar cealaltă cu semințe uscate, se ține la rece (la temperatura de 1—5°C) timp de 1, 3, respectiv 7 zile. Cînd se scot din camera rece se adaugă și în germinatoarele cu semințe uscate cîte 5 ml de apă. Pe măsura terminării expunerii la frig, toate germinatoarele se trec în termostatul de 20—24°C.

Se controlează zilnic, stabilindu-se numărul de semințe germinate în fiecare variantă (tabelul 31).

Tabelul 3

Stimularea germinației prin tratarea semințelor cu temperaturi scăzute

Semințe de . . . . . .

Varianta	Durata expunerii la frig (+1 −5°C) în zile	Nr. semințelor germinate, durata, în zile						% semințe germinate
		3	4	5	6	7	8	
I. umectat	—	...	...	...	...	...	...	...
II. umectat	1	...	...	...	...	...	...	...
III. umectat	3	...	...	...	...	...	...	...
IV. umectat	7	...	...	...	...	...	...	...
V. uscat	1	...	...	...	...	...	...	...
VI. uscat	3	...	...	...	...	...	...	...
VII. uscat	7	...	...	...	...	...	...	...

Scanned with OKEN Scanner

Se constată grăbirea postmaturației cerealelor în urma tratamentului cu temperaturi scăzute; numărul semințelor germinate este cu atît mai mare cu cît a fost mai lungă expunerea la frig; asupra semințelor îmbibate este mai accentuat efectul temperaturilor scăzute decît asupra celor uscate.

Întrucît semințele unor plante nu germinează decît după ce au fost expuse frigului, se poate obține germinația lor dacă le menținem „stratificate" în nisip umed, într-o pivniță rece sau chiar sub zăpadă în cursul întregii ierni.

Experiența nr. 228

STIMULAREA GERMINAȚIEI PRIN TRATAREA SEMINȚELOR CU CĂLDURĂ

Se pun la germinat pe hîrtie de filtru în 2 cutii Petri cîte 100 semințe de *Capsella bursa pastoris*, în următoarele variante: *a)* pe hîrtia de filtru umectată cu apă rece de conductă și cutia Petri se păstrează la lumină și la temperatura camerei (18—20°C); *b)* pe hîrtia umectată cu apă caldă (30—40°C), iar cutia se ține 12 ore la 30—40°C (prin încălzire cu lampă de spirt sau într-un termostat cu ușa de sticlă), după aceea se trece alături de prima variantă.

Se controlează zilnic timp de 1 săptămînă, numărîndu-se semințele germinate în fiecare variantă și stabilindu-se procentajul lor. Se trec rezultatele într-un tabel (tabelul 32). Se constată mărirea facultății și a energiei germinate sub efectul încălzirii semințelor.

Tabelul 32

Stimularea germinației prin tratament cu căldură

Semințe de . . . . . .

Tratament	Numărul de semințe germinate după durata în zile						% semințe germinate
	2	3	4	5	6	7	
a) 18—20°C	...	...	...	...	...	...	...
b) 12 ore căldură de 30—40°C apoi 18—20°C	...	...	...	..	...	...	...

4. GERMINAȚIA POLENULUI

Experiența nr. 229

GERMINAȚIA GRĂUNCIORILOR DE POLEN PE SUBSTRAT ARTIFICIAL

Grăunciorul de polen trebuie să absoarbă o cantitate potrivită de apă pentru a germina; în apă pură se sparge. Un substrat artificial, bun pentru germinarea polenului în laborator este soluția 5—10%

Scanned with OKEN Scanner

zaharoză cu adaus de agar în proporție de 1—3%, mediu semisolid pe care absorbția apei este moderată prin contraforța osmotică a zahărului.

Soluția fierbinte se pune în strat subțire într-o cutie Petri. După solidificarea prin răcire, se presară pe suprafața substratului polen din anterele coapte, scuturînd deasupra lui flori de: *Tradescantia virginica* sau *Impatiens parviflora, Tulipa, Narcissus, Lilium candidum, Digitalis purpurea* ș.a. Mediul agarizat pe care s-a însămînțat polenul trebuie menținut în atmosferă umedă (se așază un disc de hîrtie de filtru umectată în capacul cutiei Petri, sau cutia cu mediul se răstoarnă cu gura în jos pe capacul în care s-a pus apă) și la căldură de 20—25°C. Observarea formării și creșterii tubului polinic se face la microscop, cu mărire slabă și condensatorul coborît.

B. CREȘTEREA

1. CREȘTEREA MERISTEMATICĂ ȘI CREȘTEREA PRIN ÎNTINDERE (FAZA DE DIVIZIUNE ȘI FAZA DE ÎNTINDERE)

Organele plantelor superioare (cormofite) nu cresc în mod egal pe toată întinderea lor, ci prezintă 3 zone distincte de creștere. Zona I, a *creșterii meristematice*, care se reînnoiește fără întrerupere și în care celulele se divid mereu, însă nu își măresc perceptibil volumul. După diviziune, celulele trec continuu în a doua fază și alcătuiesc zona II, a *creșterii prin întindere*, în care frecvența diviziunilor, scăzînd treptat, a ajuns la zero; în schimb, aici este sediul celei mai importante creșteri în volum. În zona III, de *diferențiere*, celulele ajunse la maturitate nu mai cresc.

Prin simpla observație nu ne putem da seama de această limitare a creșterii prin întindere la o zonă restrînsă, dar ne convingem de aceasta recurgînd la metoda diviziunilor cu tuș (Sachs): se trasează liniuțe transversale echidistante pe organul în creștere și se constată că, în scurtă vreme, semnele se distanțează inegal între ele; îndepărtarea semnelor ne indică porțiunile care se alungesc.

În experiențele următoare se va stabili că zona creșterii prin întindere este situată aproape de vîrf, *subterminal*, la rădăcini și la tulpinile nearticulate (v. experiența nr. 230, *a* și *b*), *intercalar* la cele articulate (experiența nr. 230, *c*) și în suprafață, *predominant bazal* la limbul frunzelor (v. experiența nr. 230, *d*).

Experiența nr. 230

AFLAREA POZIȚIEI ZONELOR DE CREȘTERE LA DIFERITELE ORGANE, PRIN METODA DIVIZIUNILOR CU TUȘ

a) *Zonele de creștere la rădăcini.* Se experimentează cu 2—4 semințe germinate, la care plantulele au rădăcini viguroase și perfect drepte, de 1—2 cm lungime, de preferință de leguminoase: bob *(Vicia faba)* sau mazăre *(Pisum sativum)*.

Rădăcini potrivite se obțin punînd semințele îmbibate la germinat cu 7, 6 și 5 zile înainte de experiență, în rumeguș umed de lemn, la 20°C pentru bob și 15—18°C pentru mazăre. Semințele se așază pentru germinare astfel ca radicula să iasă direct în jos, fără să se curbeze; bobul se pune cu partea mai lată în jos, iar mazărea cu planul cotiledoanelor orientat vertical și cu hilul în jos.

Scanned with OKEN Scanner

Semințele germinate se scot din rumeguș, rădăcinile se șterg cu hîrtie de filtru și se marchează începînd de la vîrf cu 10 linii subțiri, la distanță de 1 mm unele de altele. În loc de tuș, care este vătămător pentru plante, se folosește negru de fum amestecat cu ulei de parafină. Marcarea se face ținînd rădăcina în poziție verticală în tot cursul mînuirilor, pentru a evita inducția geotropică. Rădăcina se alipește de rigla milimetrică și se fac pe ea semne, în dreptul diviziunilor, cu ajutorul unui fir de păr de porc, fixat de un bețișor de chibrit și muiat în lichidul negru. Mai ușor putem efectua marcările folosindu-ne de un fir de ață întins pe un mîner de sîrmă sau de un dispozitiv simplu, improvizat dintr-un mosor de lemn, pe care sînt întinse mai multe fire, la distanțe de 1 mm (fig. 154), și cu care semnele se fac deodată, ca și cu o ștampilă. Ața se trece întîi de mai multe ori peste un dop de plută muiat în lichidul de marcat. Pentru mai multă precizie este bine ca la două rădăcini să se facă marcarea completă — adică cu 10 diviziuni —, iar la alte două să se traseze o singură linie, la distanța de 10 mm de la vîrf; acestea din urmă vor servi drept control, pentru a observa dacă nu cumva procedeul de marcare are vreun efect asupra creșterii.

Cotiledoanele se îmbracă în vată umectată și se străpung cu cîte un ac lung pentru insecte, cu care se fixează de partea inferioară a dopului unui mic cilindru de sticlă (cu diametrul de 5 cm și înălțimea 10 cm), care va servi drept cameră umedă (fig. 155). Acesta conține puțină apă și are pereții căptușiți parțial cu hîrtie de filtru. Rădăcinile, suspendate în poziție verticală, își vor continua creșterea în atmosfera umedă, la 20—23°C, în întuneric (într-o cutie neagră sau în camera obscură).

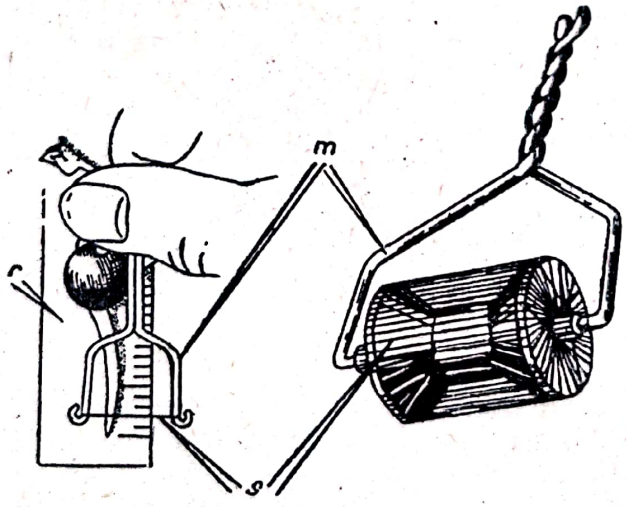


Fig. 154. Dispozitive de marcare a rădăcinilor pentru aflarea zonei de creștere :

r — riglă ; *m* — mîner de sîrmă ; *f* — fire de ață muiate în lichid de marcat (după L. Machlis, J. G. Torrey și F. D. Skazkin).

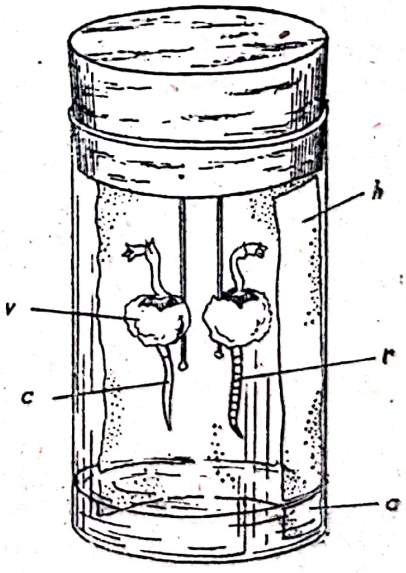


Fig. 155. Fixarea plantulelor în camera umedă pentru determinarea zonei de creștere :

h — hîrtie de filtru umedă ; *v* — vată umedă ; *c* — rădăcina de control ; *r* — rădăcina cu diviziuni ; *a* — apă.

Scanned with OKEN Scanner

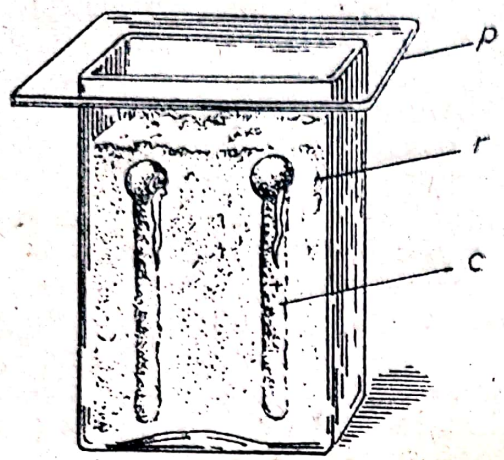


Fig. 156. Camera umedă pentru creşterea rădăcinilor:
p — placă de sticlă; *r* — rumeguş umed de lemn; *c* — canal făcut cu bagheta (după V. A. Tetiurev).

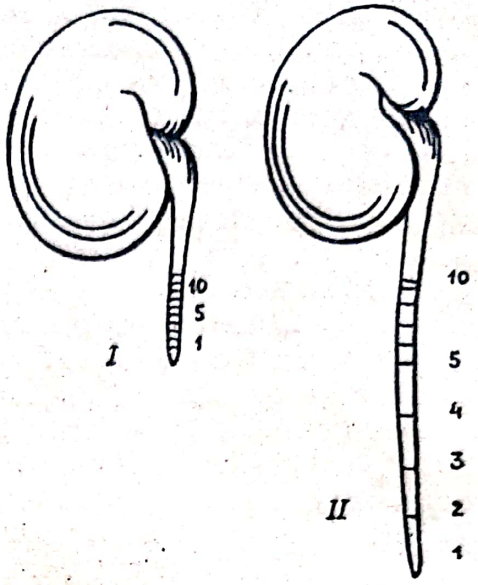


Fig. 157. Împărţirea rădăcinii în diviziuni milimetrice pentru determinarea zonei de creştere:
I — aspectul iniţial; *II* — după 24 de ore (după W. Rawald).

Plantulele se pot creşte bine şi în camera umedă folosită de *V. A. Tetiurev*: un vas dreptunghiular de sticlă se umple cu rumeguş umed de lemn, în care se fac canale verticale de-a lungul pereţilor, cu ajutorul unei baghete. În acestea se introduc rădăcinile plantulelor (fig. 156).

A doua zi se desenează rădăcina în mărime naturală, cu distanţele exacte dintre linii (fig. 157), şi se măsoară aceste distanţe. Se stabileşte astfel lungimea diviziunilor (numerotate de la 1 la 10, începînd cu vîrful) după 24 de ore. Făcînd diferenţa între lungimea iniţială (= 1 mm) şi cea finală a fiecărei diviziuni, calculăm viteza ei de creştere:

Diviziunea nr.	Lungimea, în mm, după 24 ore	Viteza de creştere mm/24 ore
1	...	...
2	...	...
.	.	.
.	.	.
.	.	.
10	...	...

Aflăm astfel că zona creşterii prin întindere a rădăcinii este situată în apropierea vîrfului, în general la 1 mm sau la puţini milimetri depărtare de vîrf; ea se extinde pe o lungime de 5—10 mm, creşterea maximă desfăşurîndu-se în dreptul diviziunilor 2, 3 şi 4. Primul milimetru de la vîrf reprezintă zona meristematică, iar mai sus de întîiul centimetru este situată zona de diferenţiere.

Indicaţiile obţinute prin metoda diviziunilor asupra localizării zonelor de creştere le întregim examinînd la microscop secţiuni mediane

longitudinale prin vîrful rădăcinii și prin celelalte două zone de creștere. Se observă și se desenează cîteva celule tipice din fiecare zonă (fig. 158).

b) *Zonele de creștere la tulpinile nearticulate.* Se seamănă într-un ghiveci cu rumeguș de lemn semințe de floarea-soarelui *(Helianthus annuus)* și de mazăre *(Pisum sativum)* și se cresc 5 zile în întuneric, la 20—25°C. Se lasă cîte două exemplare egale, de aproximativ 4 cm înălțime, din fiecare fel; restul plantulelor se înlătură din ghiveci. Se marchează apoi tulpinile, de sus pînă jos, cu semne echidistante de 1 mm, prin procedeul descris în experiența nr. 230, *a.* La hipocotilul de *Helianthus*, marcările se încep la locul de inserție al cotiledoanelor, iar la epicotilul de *Pisum*, sub frunzișoarele din vîrf. Celelalte două plantule de control se înseamnă cu cîte o singură linie, la 2 cm de la vîrf.

După 1—2 zile de creștere în întuneric și la căldură (20—25°C), se observă că semnele s-au îndepărtat unele de altele, însă nu peste tot, ci mai ales sub vîrf, iar la bază distanța dintre ele a rămas nemodificată (fig. 159). Deci și la tulpină, ca și în cazul rădăcinii, creșterea prin întindere are loc într-o zonă unică, situată mai jos de vîrf. Aceasta este

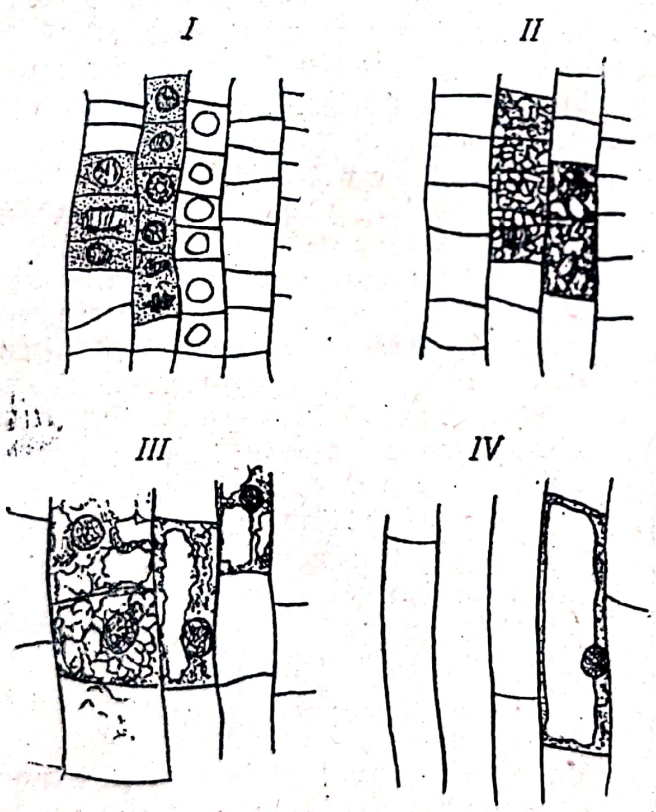


Fig. 158. Tipuri de celule din vîrful rădăcinii de grîu :

I — celule în diviziune, din zona creșterii meristematice (la 0,2 mm de la vîrf); *II* — începerea creșterii prin întindere și a formării vacuolelor (la 0,6 mm de la vîrf); *III* — continuarea întinderii (la 1,0 mm de la vîrf); *IV* — faza finală a întinderii (la 1,4 mm de la vîrf) (după H. Lundegardh).

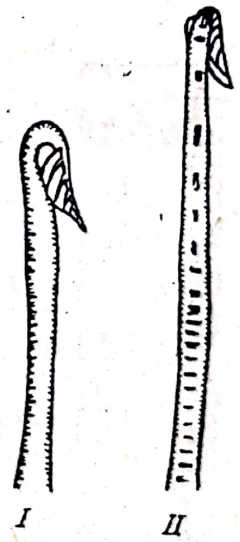


Fig. 159. Zona creșterii prin întindere la tulpina plantulei de *Phaseolus multiflorus:*

I — tulpina cu diviziuni milimetrice; *II* — aceeași tulpină după 24 de ore (după H. Molisch).

însă mai lungă decît la rădăcină (ea poate să atingă uneori mai mulţi centimetri) şi este mai îndepărtată de vîrf (la cîţiva milimetri sau chiar centimetri). Partea bazală a tulpinii a crescut deja şi nu se mai lungeşte, iar celulele din vîrf se găsesc încă în stare de diviziune şi nu se alungesc încă, dar curînd vor trece în faza de întindere.

c) *Zonele intercalare de creştere la tulpinile articulate.* La tulpinile articulate fiecare internod prezintă o zonă de creştere intercalară.

La două plante tinere de *Gramineae* sau de *Polygonatum*, care au cel puţin 3 internoduri, se măsoară lungimea exactă a fiecărui internod şi nod. Cele 3 internoduri superioare ale unuia dintre exemplare se marchează cu linii orizontale, la distanţe de 2 mm între ele, utilizînd procedeul descris în experienţa nr. 230, *a*. După 1 şi 2 săptămîni se repetă măsurările şi se calculează sporul creşterii pentru fiecare articol. Se constată că fiecare internod tînăr se lungeşte, deci tulpinile articulate au mai multe zone intercalare de creştere. Remăsurarea distanţei dintre liniile de marcare ne dă indicii asupra poziţiei acestor zone.

Existenţa zonei intercalare de creştere la paiul gramineelor se poate dovedi şi printr-o experienţă de scurtă durată, propusă de *W. Detmer:* Dintr-un pai de cereale, care încă n-a crescut complet, se taie un internod tînăr, împreună cu nodul inferior. Acest fragment de tulpină se secţionează la mijloc, obţinîndu-se două porţiuni, de lungime egală şi cunoscută: jumătatea superioară şi cea inferioară a internodului (fig. 160). Cele două segmente se ţin cîteva ore cu baza scufundată în apă. După 12—24 de ore se constată că segmentul superior nu a crescut, pe cînd cel inferior, care are nod, s-a lungit cu cîţiva milimetri, ieşind din teaca frunzei. Deci deasupra fiecărui nod există o zonă intercalară de creştere.

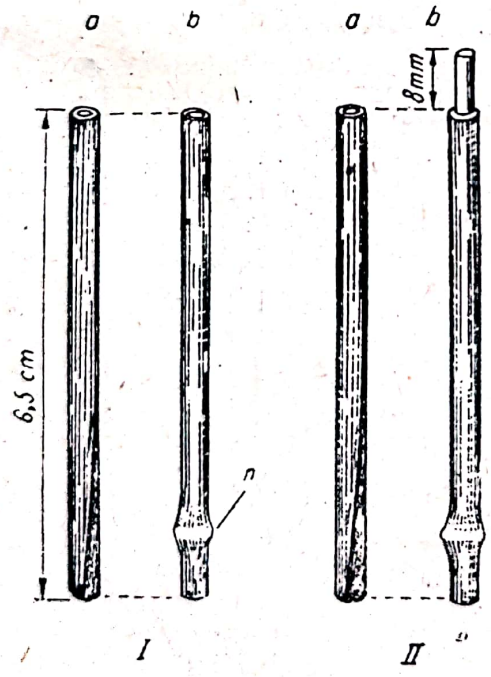


Fig. 160. Dovedirea existenţei zonei intercalare de creştere la paiul de graminee:

n — nod; *a* — jumătatea superioară; *b* — jumătatea inferioară; *I* — internod tăiat în două; *II* — după 12 ore.

d) *Zonele de creştere la frunze.* Limbul frunzei prezintă întîi o creştere apicală, care se stinge curînd, şi în locul ei predomină creşterea în suprafaţă şi printr-o zonă intercalară apropiată de bază, *creştere bazală* (la monocotiledonate) şi *creştere bazală plus laterală* (la dicotiledonate).

Se alege una dintre frunzele tinere, abia pe sfert dezvoltată, de la un dicotiledonat, de exemplu dovleac *(Cucurbita pepo)*, hrişcă *(Fagopyrum sagittatum)*, fasole *(Phaseolus vulgaris)* sau de *Aristolochia clematitis*. Fără să se desprindă de pe plantă se trasează pe faţa superioară a frunzei 2 serii de linii, unele paralele cu nervura mediană, celelalte perpendiculare pe pri-

mele, așa ca suprafața frunzei să fie împărțită în pătrățele cu latura de 2 mm. Se folosește metoda de marcare indicată în experiența nr. 230, *a*. Frunza se ține întinsă pe o suprafață ușor convexă, de exemplu pe un flacon, iar liniile se trasează folosind ca reper diviziunile de pe o hîrtie împărțită în pătrățele, așezată sub frunză. Pe această hîrtie se desenează mai înainte conturul frunzei, pentru a cunoaște aspectul ei exact și situația liniilor de marcare la începutul experienței.

Frunza se controlează din timp în timp. După 4 zile se poate constata deformarea pătrățelelor. Cînd ajunge la dezvoltare completă (2—3 săptămîni) se desprinde de pe plantă și i se desenează conturul și aspectul final al liniilor (fig. 161, *C* și *D*). Deformarea pătratelor arată expansiunea neegală a suprafeței limbului foliar. Frunza prezintă o *creștere în suprafață*, avînd regiunea de creștere oarecum difuză și situată către *bază*, precum și pe cele două laturi.

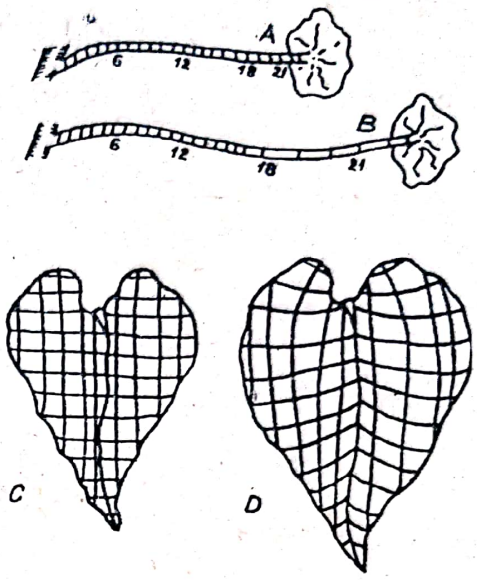


Fig. 161. Zona de creștere la pețiolul de *Tropaeolum* (*A*, *B*) și repartiția creșterii la limbul frunzei de *Fagopyrum* (*C*, *D*):

A — pețiolul prevăzut cu diviziuni echidistante; *B* — același pețiol după 4 zile; *C* — frunză împărțită în pătrățele; *D* — aceeași frunză după 4 zile (după J. Small).

Se repetă experiența pe o frunză tînără de monocotiledonat (de exemplu, porumb, *Zea mays*) lung de 10 cm, crescut într-un ghiveci. Se fac marcări pe o porțiune de la vîrful frunzei și pe locul unde iese din coleoptil. Cercetînd semnele după 24 de ore, aflăm că frunza crește prin baza sa; aceasta permite frunzelor de *Gramineae* să-și poată continua creșterea după ce capătul lor a fost retezat cu coasa.

În cazul cînd experiențele se execută în afara laboratorului, marcările se fac pe fața inferioară a frunzei, pentru ca să nu fie șterse de ploaie.

Repartizarea creșterii la pețiol se va afla făcîndu-se diviziuni milimetrice transversale pe toată întinderea unui pețiol de la o frunză tînără de călțunași *(Tropaeolum majus)*. După 4 zile se constată că s-au îndepărtat numai 6—7 diviziuni, și anume cele mai apropiate de limbul foliar (fig. 161, *A* și *B*).

Experiența nr. 231

CREȘTEREA INEGALĂ A DIFERITELOR ȚESUTURI DINTR-UN ORGAN (TENSIUNEA ȚESUTURILOR)

Celulele care alcătuiesc un organ diferă în privința turgescenței, grosimii pereților, a elasticității, și nu cresc cu aceeași viteză. Fiind însă legate împreună, ele sînt fie întinse, fie comprimate de celulele vecine. Ca o consecință, se nasc tensiuni

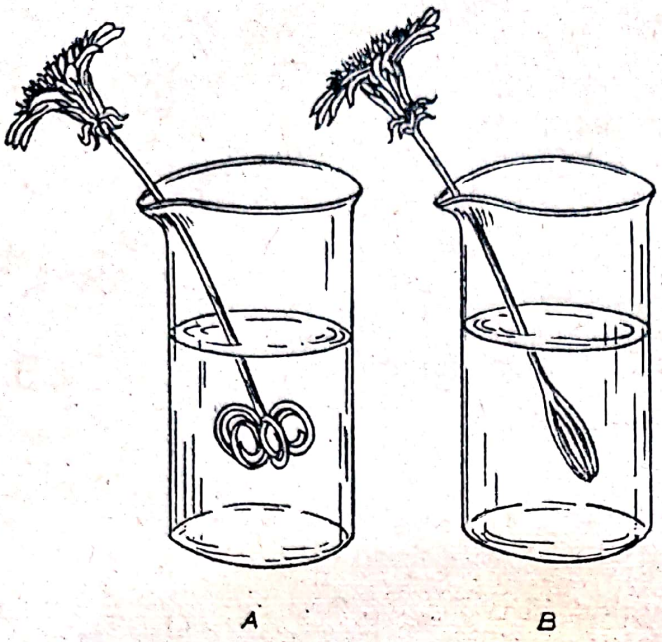


Fig. 162. Dovedirea tensiunii ţesuturilor într-un scap de *Taraxacum*:
A — în apă; *B* — în soluţie concentrată de zaharoză.

între ţesuturile organului. Acestea se pot recunoaşte cînd tăiem ţesutul, aşa ca să înlăturăm rezistenţele care au cauzat tensiunea.

Se taie un fragment din tulpina unei plante tinere, care creşte încă, de floarea-soarelui *(Helianthus annuus)*, şi i se măsoară exact lungimea. Desprindem în lung o fîşie de epidermă şi apoi îi măsurăm din nou lungimea; constatăm că după desprindere fîşia s-a scurtat.

Dintr-un fragment identic sau dintr-un internod tînăr de soc *(Sambucus)*, de lungime cunoscută, se separă epiderma, lemnul şi măduva (măduva se desparte de ţesutul periferic cu ajutorul unui perforator de dopuri). Epiderma se va scurta, măduva, dimpotrivă, se va lungi, iar lemnul îşi va păstra dimensiunea iniţială. Aceasta înseamnă că, în legătura sa organică, epiderma a fost întinsă, iar măduva comprimată.

Dacă se taie un scap de păpădie *(Taraxacum officinale)* şi se despică la capăt în 4 fîşii lóngitudinale pe distanţă de cîţiva centimetri (fig 162), segmentele se curbează imediat în afară, căci celulele interne tindeau să se lungească şi erau împiedicate de cele externe. Răsucirea fragmentelor despicate se accentuează dacă se scufundă scapul în apă, ca urmare a mărimii turgescenţei celulelor interioare. Dimpotrivă, prin scufundarea într-o soluţie puternic hipertonică (soluţie concentrată de zaharoză), fîşiile rămîn drepte sau chiar se curbează uşor invers, adică spre interior.

Experienţa reuşeşte cu multe materiale, ca: hipocotil de *Helianthus*, peduncul floral de *Primula sinensis*, *P. obconica*, *Tussilago farfara* ş.a.

Tensiunea ţesuturilor nu se manifestă numai în lungime, ci şi transversal. Dacă se desprinde scoarţa de pe ramura unui copac, sub forma unui inel, care se taie lateral şi se desprinde, apoi se încearcă să se repună la loc, se observă că inelul nu mai cuprinde ramura. Prin urmare, scoarţa este întinsă şi transversal. Tensiunea transversală atinge valori mari în cursul creşterii în grosime a organului. Ea poate cauza ruperea ţesuturilor (de exemplu, coaja de pe trunchiul castanului sălbatic, al ulmului etc.).

Scanned with OKEN Scanner

2. PERIOADA MARE A CREȘTERII.

Experiența nr. 232

REPREZENTAREA GRAFICĂ A MERSULUI CREȘTERII

Creșterea unei celule, a unui organ sau a plantei întregi, nu este constantă și prezintă un mers caracteristic. La început, este înceată, apoi devine rapidă pînă atinge un maxim, treptat se încetinește și în final se oprește; aceasta este ceea ce a numit *Sachs* „perioada mare a creșterii". Graficul în care se raportează la timp lungimile tulpinii, rădăcinii sau frunzei, măsurate la intervale egale, în cursul întregii durate a perioadei mari, este o curbă în formă de S. Această curbă sigmoidă este o expresie grafică tipică a creșterii organismelor vegetale sau a părților lor.

a) *Experiența cu rădăcini.* Se germinează semințe îmbibate de mazăre *(Pisum sativum)* în rumeguș de lemn. Se experimentează cu 4—6 boabe germinate, care au rădăcinițele egale (5—15 mm lungime). Se poate proceda în două moduri: *a)* Se trasează pe rădăcini diviziuni cu tuș la distanțe egale de 1 mm și se cresc plantulele în atmosferă umedă, ca în experiența nr. 230, *a*. Se urmărește creșterea unui singur segment al organului (de exemplu, milimetrul al doilea de la vîrf), măsurîndu-i-se lungimea timp de 8 zile, zilnic la aceeași oră. *b)* Experimentînd cu rădăcinițe mai scurte (care au lungimea inițială de 5 mm), se măsoară zilnic lungimea întregului organ, de la un semn care a fost trasat la baza rădăciniței, la o distanță de 5 mm de la vîrf. Rezultatele se trec într-un tabel în care se consemnează:

Timpul în zile	Lungimea medie a rădăcinii, în mm	Viteza creșterii, în mm/24 ore

Din datele obținute se execută reprezentarea grafică. Numărul de zile se notează pe abscisă, crescînd spre dreapta (1—8), iar pe ordonată se trece lungimea medie, în milimetri (0—100), crescînd în sus. Se desenează curbele creșterii care oglindesc perioada mare (fig. 163). Curba care exprimă lungimea totală a organului (*A*) amintește forma literei S, este o curbă sigmoidă. Ea se ridică întîi încet, apoi din ce în ce mai repede, ca la sfîrșit să se apropie de orizontală; deci exprimă accentuarea gradată a vitezei de creștere pînă la un maximum, apoi manifestarea unei inhibiții care duce la sistarea procesului. Curba care redă sporul zilnic al lungimii organului (*B*) este o curbă maximală.

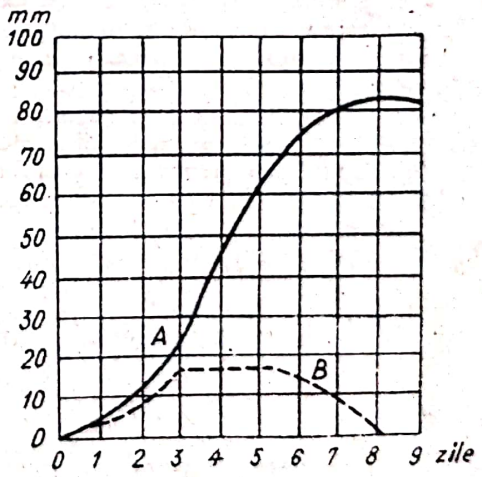


Fig. 163. Curbele creșterii rădăcinii de bob *(Vicia faba)*:
A — curba lungimii totale (sigmoidă); *B* — curba sporului zilnic al lungimii (maximală) (după N. A. Maximov).

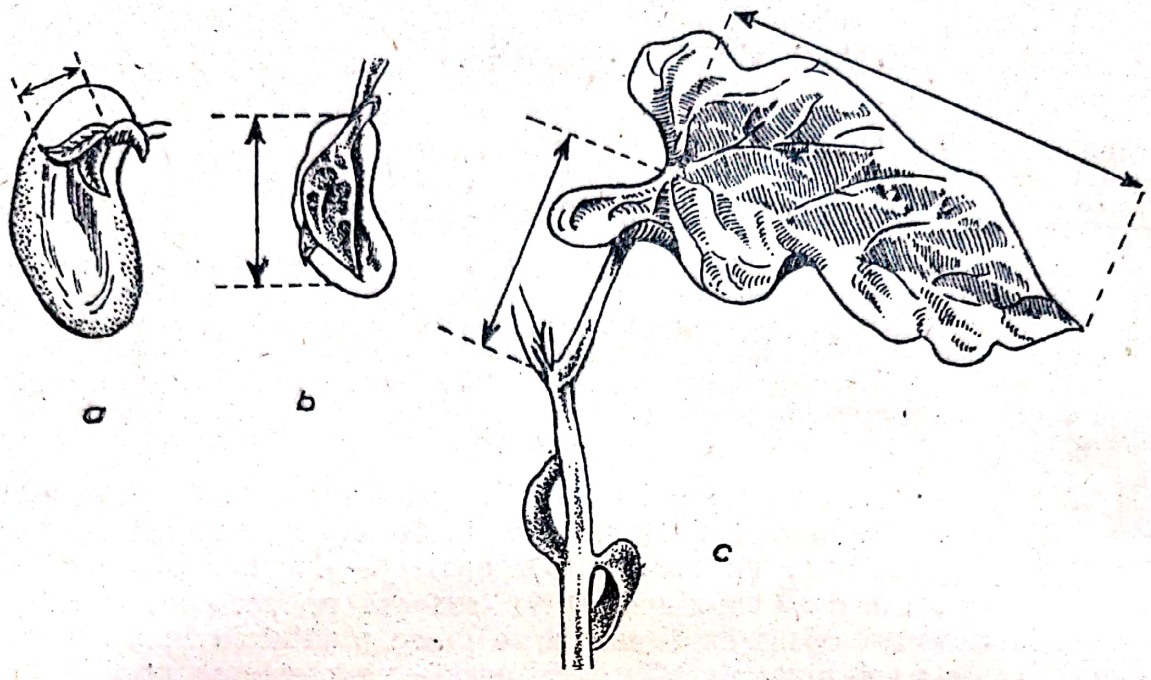


Fig. 164. Modul cum trebuie efectuate măsurările pentru stabilirea perioadei mari de creştere la frunză (după L. Machlis — J. G. Torrey).

b) *Constatarea perioadei mari a creşterii la tulpini.* Se poate efectua pe 50 de plantule de creson *(Lepidium sativum)* cultivate în ghiveci. Pe acestea se măsoară sporul zilnic al creşterii, timp de o săptămînă, şi se reprezintă apoi grafic valorile medii ale creşterii în dependenţă de timp. Ca şi în cazul rădăcinii, se obţine tot o curbă în formă de S.

c) *Experienţa cu frunză.* Se măsoară din timp în timp, lungimea celor două frunze pereche de deasupra cotiledoanelor, la plantula de fasole *(Phaseolus)*, începînd cu bobul negerminat, pînă la plantula de 3 săptămîni, apoi se reprezintă grafic lungimea medie a frunzei raportată la timp. Aceasta se execută astfel:

Se îmbibă 20—25 de boabe de fasole. Trei bucăţi se despică în două ca să se poată măsura lungimea frunzişoarelor embrionului (fig. 164, *a*) şi se calculează media Celelalte se pun la germinat în nisip şi se cresc la căldură şi lumină. La 5 şi la 7 zile se dezgroapă cîte 3 seminţe germinate şi se stabileşte lungimea medie a frunzişoarelor (fig. 164, *b*), apoi se aruncă. Măsurările care urmează se vor efectua pe 3 plantule (aceleaşi), nescoase din nisip, la 12, 14, 19 şi 21 de zile de la începutul experienţei. Lungimea frunzei cuprinde lungimea limbului, plus cea a peţiolului (fig. 164, *c*). Săgeţile din figura 164 indică măsurările care trebuie executate.

Se va constata că viteza creşterii frunzei se schimbă în decursul celor trei săptămîni, iar prin exprimarea grafică a datelor se obţine o curbă sigmoidă.

3. FORŢA EXERCITATĂ DE ORGANELE CARE CRESC

Experienţa nr. 233

FORŢA MECANICĂ EXERCITATĂ DE VÎRFUL TULPINII ŞI AL RĂDĂCINII ÎN CREŞTERE

Dacă se aşază pietre peste plantulele de bob *(Vicia faba)* care tocmai ies din pămînt, se observă cum acestea pot fi înlăturate prin forţa exercitată de vîrful tulpinii.

Forța cu care pătrunde vîrful rădăcinii în pămînt se poate demonstra astfel: Se fixează o bucată de plută pe peretele intern al unui mic cristalizor (fig. 165), în care se pun mercur și puțină apă. O plantulă de bob, care are rădăcina dreaptă, de 1,5 cm lungime, se fixează de plută cu un ac, așa ca rădăcina să fie scufundată în apă și să stea orizontal pe fața mercurului. După cîteva ore, vîrful rădăcinii, învingînd rezistența mercurului, pătrunde în acesta.

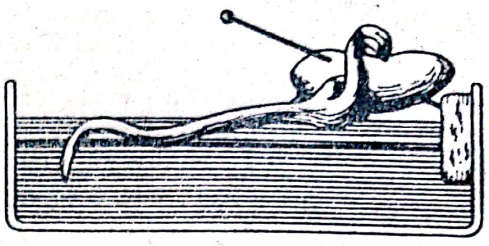


Fig. 165. Dovedirea forței mecanice exercitate de vîrful rădăcinii în creștere: *a* — apă; *m* — mercur (după Sachs, din W. Detmer).

Același lucru se poate dovedi dacă se fixează o plantulă de bob la un dop de plută, susținut de clema unui stativ. Rădăcinița ei se scufundă în apa dintr-un mic cristalizor de pe talerul unei balanțe de mînă. Pe celălalt taler se pun greutăți corespunzătoare pentru echilibru. Vîrful rădăcinii se sprijină exact pe fundul vasului, apoi se pune peste apă puțin ulei ca să nu se evapore. În cîteva ore, talerul este împins în jos de vîrful rădăcinii. Presiunea exercitată de ea se poate evalua prin greutățile care trebuie adăugate pe talerul opus, pentru restabilirea echilibrului.

Prin creșterea în grosime a rădăcinilor sau a tulpinilor de copaci pot fi ridicate sau îndepărtate blocuri de stînci. Presiunea dezvoltată aici este cauzată mai ales de forța de turgescență și, în măsură mai mică, prin creșterea membranelor în grosime.

4. METODE DE MĂSURARE A CREȘTERII

Metodele de măsurare a creșterii variază cu scopul urmărit, cu tipul materialului vegetal și cu cantitatea lui.

La plantele unicelulare (drojdii, bacterii, alge microscopice), creșterea se poate evalua prin determinarea *numărului de celule* dintr-un centimetru cub de suspensie (v. experiența nr. 234), prin stabilirea *dimensiunii celulelor* la microscop, cu ajutorul micrometrului (v. experiența nr. 235) sau prin determinarea *volumului unui număr mare de celule* în urma centrifugării suspensiei (v. experiența nr. 236, *a*). Uneori, metoda volumetrică se pretează și pentru măsurarea creșterii unui organism pluricelular sau a unui organ al acestuia; în acest caz se realizează prin *dislocarea unui lichid* (v. experiența nr. 236, *b*).

Procedeul cel mai utilizat pentru măsurarea creșterii plantelor pluricelulare sau a organelor lor este însă stabilirea valorii medii a lungimii, lățimii sau circumferinței, rezultată din *măsurări liniare*, făcute pe un număr mare de exemplare, la diferite intervale de timp (v. experiența nr. 237).

Măsurarea creșterii în lungime a plantelor cu *auxanometrele* (v. experiența nr. 239) este potrivită pentru demonstrațiile la lecții, dar nu este satisfăcătoare pentru cercetări. Auxanometrele se bazează pe transmiterea prin pîrghie a mișcării de alungire a plantei, ceea ce are neajunsul că tracțiunea exercitată asupra plantei tulbură creșterea și că frecarea la axa pîrghiei poate avea drept efect că indicatorul înregistrează mișcări sacadate, cînd în realitate creșterea este continuă.

Pentru cercetare sînt de preferat *metodele optice*, în care plantele cresc în condiții normale, nefiind influențate în mod mecanic. Rezultate bune se obțin prin măsurările la *microscopul orizontal* (v. experiența nr. 238). De mare valoare, însă

mai complicată și costisitoare, este *înregistrarea cinematografică*. În ambele cazuri, lumina nu tulbură creșterea, căci acțiunea ei se limitează la o durată minimă.

În afară de metodele bazate pe măsurarea creșterii prin întindere — care nu este totdeauna însoțită de sporul substanței uscate —, în cercetările de fiziologie aduc bune servicii *metodele gravimetrice*, de determinare a greutății proaspete și, mai bine, de determinare a greutății uscate a materialului vegetal.

Experiența nr. 234

MĂSURAREA CREȘTERII PRIN DETERMINAREA NUMĂRULUI DE CELULE DINTR-UN MEDIU DE SUSPENSIE

Creșterea plantelor unicelulare (drojdii, bacterii, unele alge), care este însoțită de sporul numărului de celule, se poate măsura prin repartizarea uniformă a acestor organisme în mediul de suspensie, urmată de determinarea numărului celulelor dintr-o picătură de suspensie pusă sub microscop și raportarea acestui număr la unitatea de volum (1 ml).

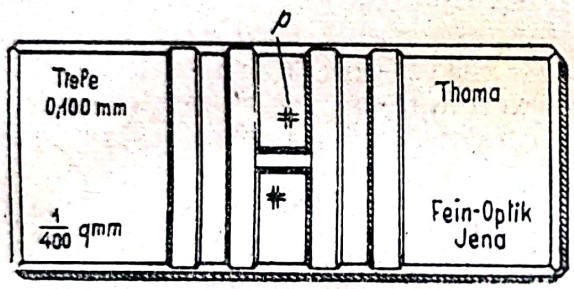


Fig. 166. Camera gradată a lui Thoma pentru determinarea numărului de celule dintr-un mediu de suspensie:
p — un pătrat de 1 mm² subdivizat

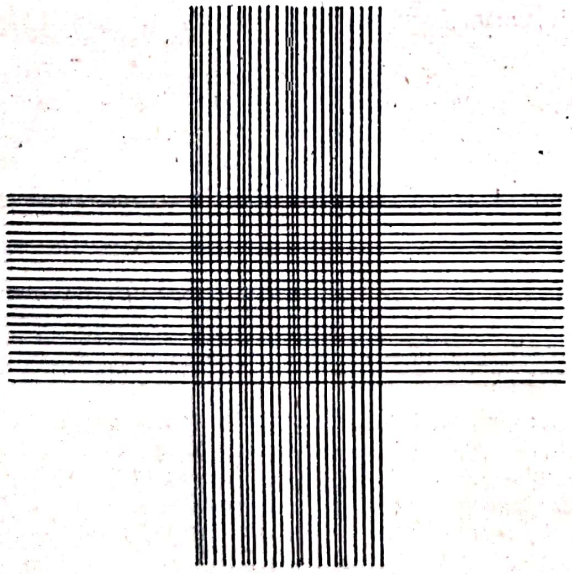


Fig. 167. Zona divizată a camerei Thoma, mult mărită: pătratul de 1 mm subdivizat în 400 de pătrățele.

Numărarea celulelor se efectuează cu camera gradată a lui *Thoma*. Aceasta este o lamă de sticlă, ceva mai mare decît un portobiect obișnuit (fig. 166), pe care sînt gravate două pătrate de cîte 1 mm^2, subdivizate printr-o serie de linii perpendiculare în 400 de pătrățele (fig. 167). Fiecare pătrățel delimitează o suprafață de 1/400 mm^2 (=0,0025 mm^2). Dacă se pune pe această lamă o picătură mică de lichid și se acoperă cu lamela, prisosul se scurge într-un șănțuleț, iar stratul lichidului deasupra zonei divizate are o adîncime de 0,100 mm. Prin urmare, volumul lichidului cuprins între suprafața pătratului (de 1 mm^2) și lamela care-l acoperă este de 0,1 mm^3. Lichidul care se află deasupra fiecărui pătrățel subdivizionar are volumul de 1/4 000 mm^3 (= 0,00025 mm^3).

Numărarea celulelor de drojdie dintr-o suspensie. Se agită bine lichidul pentru ca celulele să se răspîndească uniform. Din

suspensia omogenizată se scoate repede (înainte de depunerea celulelor), cu o pipetă, o probă de 3 ml, care se trece într-o eprubetă. Dacă proba conține prea multe celule se diluează cu 1 ml H_2SO_4 diluat (1 parte acid concentrat la 10 părți apă distilată) și se agită bine. Celulele, care sînt aglomerate în mediile organice, se despart în urma adăugării acidului și după aceea nu se sedimentează decît încet. Cînd se lucrează cu bacterii, adaosul de acid mai este avantajos și pentru că le oprește mișcarea. Din proba agitată cu acidul, se pune repede o picătură (cu pipeta) pe placa de numărat din camera Thoma și se acoperă cu lamela. Camera Thoma se fixează pe platina microscopului și se lasă un timp în repaos, pentru ca să se așeze celulele.

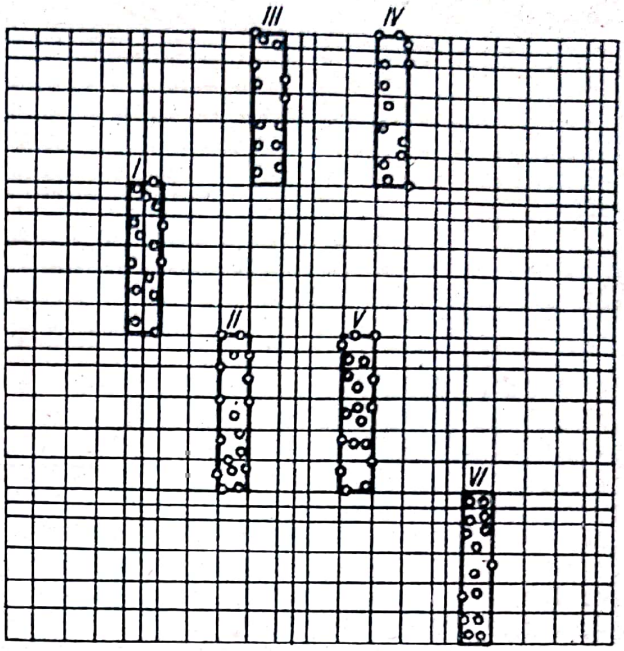


Fig. 168. Procedeul de numărare a celulelor de drojdie cu camera Thoma: numărarea celulelor din 6 regiuni (*I—VI*), formate din cîte 5 pătrățele subdivizionare alăturate.

Urmează operația de numărare. Aceasta se poate face în două moduri: se numără celulele din toate cele 400 de pătrățele sau se stabilește numai numărul celulelor din 6 regiuni mai mici ale pătratului de 1 mm^2 (fig 168, zonele *I—VI*). Cele 6 regiuni trebuie să se aleagă din diferite părți ale suprafeței gradate; fiecare este reprezentată de o arie ce cuprinde un șir de 5 pătrățele subdivizionare alăturate. Celulele de pe liniile care delimitează zona dreptunghiulară formată din cele 5 pătrățele se numără numai $^1/_2$, adică cele de pe 2 laturi ale dreptunghiului (o latură lungă + o latură scurtă).

Media numărului celulelor din 5 pătrățele se împarte la 5, apoi se înmulțește cu 400, pentru a afla numărul mediu, *a*, de celule cuprinse în 0,1 mm^3 de lichid. Pentru mai multă exactitate, numărarea se repetă la 3 probe și se calculează media mediilor.

În 1 ml de lichid se găsesc $a \times 10\,000$ de celule. Dacă diluția s-a făcut prin adăugarea de 1 ml de H_2SO_4 la 3 ml de suspensie, trebuie să se înmulțească rezultatul cu $^4/_3$. Deci numărul de celule în 1 ml de lichid nediluat este:

$$\frac{a \times 10\,000 \times 4}{3}$$

Metoda numărării celulelor, este greu de aplicat la țesuturi. Totuși, poate servi și pentru măsurarea creșterii unor frunze, prin numărarea celulelor în secțiuni transversale și longitudinale.

Experiența nr. 235

MĂSURAREA CREȘTERII PRIN DETERMINAREA DIMENSIUNII CELULELOR CU MICROSCOPUL

Creșterea organismelor unicelulare (de exemplu, drojdii) poate fi măsurată prin determinarea dimensiunii celulelor, sub microscop. Evaluarea este mai ușoară în cazul celulelor sferice, la care se măsoară un singur diametru; la cele alungite însă, trebuie stabilite atît lungimea cît și lățimea medie a celulelor.

Pentru efectuarea măsurării se înlocuiește ocularul obișnuit al microscopului cu un *ocular micrometric*, a cărui scară prezintă de obicei diviziuni de 1/10 mm (= 0,1 mm sau 100 μ). Privind prin el preparatul cu celulele de drojdie, se citește numărul diviziunilor care acoperă diametrul unei celule. Prin aceasta însă nu am determinat adevărata lor dimensiune, întrucît nu știm la cîți microni corespunde o diviziune de pe micrometrul ocular.

Pentru a determina mărimea reală a celulei, trebuie să stabilim *valoarea micrometrică*, adică acea lungime care corespunde, în planul obiectului, unei diviziuni de pe scara micrometrului ocular. Valoarea micrometrică diferă după obiectivele folosite. De aceea, înainte de a ne servi de micrometrul ocular, stabilim care este valoarea diviziunilor sale pentru combinația de ocular-obiectiv cu care urmează să efectuăm măsurările.

Determinarea valorii micrometrice se face cu ajutorul unui *micrometru obiectiv*. Acesta este format dintr-o lamă de sticlă în mijlocul căreia este gravată o scară milimetrică cu lungimea de 1 mm, împărțit în 100 de părți; deci o diviziune a sa corespunde la 1/100 mm = 10 μ (fig 169).

Micrometrul obiectiv se așază pe platina microscopului, ca și un preparat, și se pune la punct imaginea scării lui (operație înlesnită de faptul că gradația este cuprinsă într-un cadru format din 3 cercuri concentrice). După aceea se deplasează pînă cînd se suprapun cele două scări, ale micrometrelor ocular și obiectiv (fig. 170). Se compară cele două serii de diviziuni și se observă cîte diviziuni obiective se suprapun exact unui număr de diviziuni oculare. Figura 170 arată cum se văd prin microscop cele două scări micrometrice suprapuse. În această imagine, 53 de diviziuni de pe ocular corespund la 20 de diviziuni de pe obiectiv.

Cînd a diviziuni ale obiectivului acoperă b diviziuni ale ocularului, valoarea micrometrică (adică valoarea unei diviziuni de pe micrometrul ocular la acea combinație de obiectiv-ocular) este $\frac{a \times 10}{b}$. Formula este valabilă atunci cînd micrometrul obiectiv este împărțit în 1/100 mm, iar cel ocular în 1/10 mm.

Scanned with OKEN Scanner

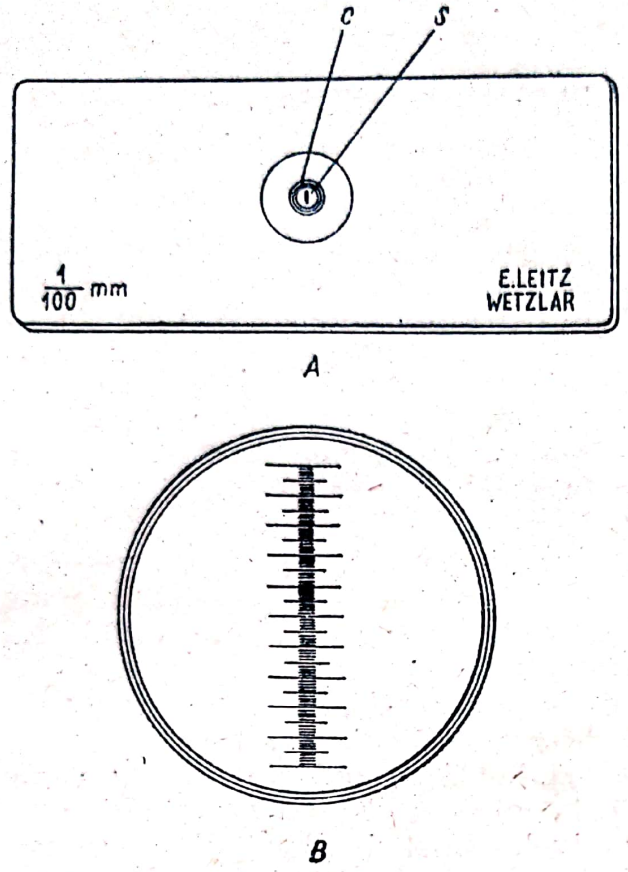


Fig. 169. Micrometrul obiectiv utilizat pentru stabilirea valorii micrometrice a microscopului :

A — portobiectul cu micrometrul obiectiv : *c* — cadrul micrometrului ; *s* — scara gradată ; *B* — scara gradată a micrometrului (1 mm împărțit în 100) ; o diviziune = 1/100 mm = 10 μ

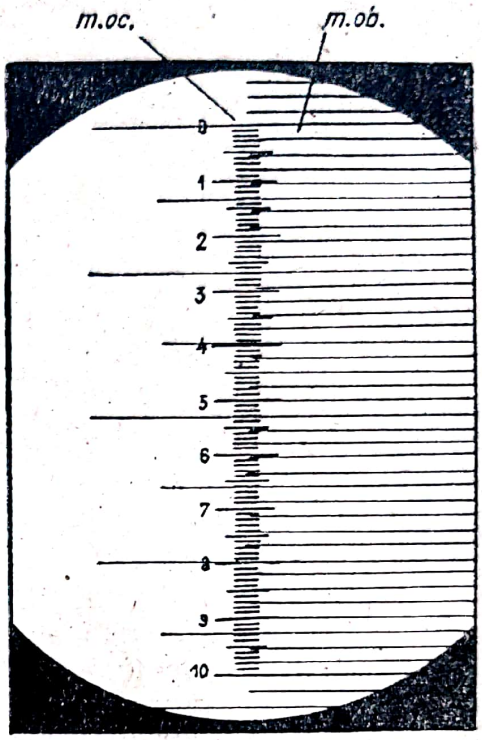


Fig. 170. Cele două scări micrometrice (ale micrometrului obiectiv și ocular) suprapuse, văzute prin microscop :

m.oc. — micrometru ocular ; *m.ob.* — micrometru obiectiv ; diviziunea 20 de pe obiectiv corespunde cu diviziunea 53 de pe ocular.

Dacă se află că 20 de diviziuni ale micrometrului obiectiv corespund la 53 de diviziuni ale ocularului, valoarea micrometrică este:

$$\frac{20 \times 10}{53} = 3{,}773\ \mu.$$

Cu alte cuvinte, o diviziune de pe micrometrul ocular corespunde la 3,773 microni (în cazul folosirii obiectivului cu care s-a făcut determinarea).

După ce am determinat valoarea unei diviziuni a micrometrului ocular, exprimată în microni, nu mai avem nevoie de micrometrul obiectiv. În locul lui punem pe platina microscopului preparatul cu celulele ale căror dimensiuni le vom determina. Dacă se află că diametrul celulelor de drojdie corespunde cu 2 diviziuni ale micrometrului ocular, înseamnă că acest diametru este de $2 \times 3{,}773 = 7{,}54\ \mu$.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 236

MĂSURAREA CREȘTERII PRIN DETERMINAREA VOLUMULUI

a) *Determinarea volumului la organismele unicelulare, prin centrifugare.* Măsurarea creșterii drojdiilor se poate face prin centrifugare. Soluția nutritivă în care au fost cultivate drojdiile se agită, pentru a se obține o suspensie omogenizată. Aceasta se pune în eprubete mici, conice, gradate și se centrifughează, apoi se măsoară volumul depozitului din eprubete. Deci prin acest procedeu se evaluează volumul unui număr mare de celule. Metoda este utilă cînd se măsoară comparativ creșterea drojdiilor din 2 serii de culturi: I din soluții nutritive cu substanțe de creștere — bios (v. experiența nr. 242) și II din soluții nutritive fără adaos de bios. În primul caz se formează un volum total de celule mai mare decît în al doilea.

b) *Determinarea volumului la organismele pluricelulare, prin dislocarea unui lichid.* Creșterea unui organism sau organ vegetal se poate aprecia determinîndu-i volumul prin dislocarea unui lichid, astfel: Într-un cilindru gradat de capacitate potrivită cu mărimea materialului de măsurat (de exemplu, de 100 ml) se pune apă pînă la o anumită diviziune (de exemplu 50), apoi se scufundă în lichid planta sau organul vegetal (plantule întregi, frunze, rădăcini etc.). Se îndepărtează bulele de aer aderente cu o baghetă de sticlă și apoi se citește nivelul pînă la care s-a ridicat apa. Din diferența între nivelul final și cel inițial se află volumul materialului vegetal. Măsurarea se poate face și prin punerea plantei într-un cilindru gradat și acoperirea ei cu un volum cunoscut de apă.

Metoda se poate utiliza pentru compararea volumului țesuturilor de același fel. La țesuturile de tipuri diferite, măsurările se complică, pentru că nu sînt toate la fel de compacte, iar mărimea spațiilor intercelulare din ele diferă.

Experiența nr. 237

EVALUAREA CREȘTERII PRIN MĂSURĂRI LINIARE ȘI DUPĂ SPORUL DE SUBSTANȚĂ

În cercetările asupra creșterii tulpinilor, a rădăcinilor sau a frunzelor ori a circumferinței trunchiurilor sînt satisfăcătoare uneori simplele măsurări liniare, cu rigla gradată. Acestea se efectuează pe un număr mare de exemplare de plante și se calculează valoarea medie. Trebuie să se țină seama că două rădăcini sau tulpini care cresc la fel în lungime pot să varieze foarte mult în grosime, deci vor avea mase diferite.

1) *Experiențe de măsurare a creșterii cu rigla.* Se recomandă să se facă primăvara și pe plante care cresc cu viteză mare. Așa sînt, dintre plantele de grădină, *Polygonum cuspidatum*, dintre cele de seră bambusul *(Bambusa)*, iar în laborator se poate urmări bine creșterea pe semin-

Scanned with OKEN Scanner

țele germinate de porumb și de fasole. Cînd se fac măsurări pe plante care cresc în cîmp, trebuie să se marcheze cu semne de hîrtie exemplarele în studiu.

Se pregătesc dinainte tabelele cu coloanele necesare, în care trebuie să se cuprindă numele plantei, organul a cărui creștere se urmărește, unitatea de măsură în care se exprimă (milimetri sau centimetri), datele la care se fac măsurările (ziua, ora), coloane pentru lungime, lățime, respectiv grosime și pentru media valorilor. Rezultatele măsurărilor se trec imediat, direct, în aceste tabele, evitîndu-se transcrierile, prin care se pot introduce erori. În fine, se face calculul sporului realizat prin creștere, exprimat în milimetri și raportat la timp (de exemplu, la 24 de ore).

2) *Măsurarea creșterii prin evaluarea sporului de substanță.* Creșterea plantelor se poate măsura și prin evaluarea sporului de substanță, cu metodele gravimetrice:

a) Măsurarea creșterii prin determinarea greutății proaspete a materialului vegetal reprezintă un criteriu de apreciere a creșterii, care dă date mai exacte decît măsurările liniare și cele de greutate uscată pentru indicarea volumului total, real al celulelor. Metoda prezintă avantajul că țesutul sau planta se cîntărește fără a se omorî. Are însă inconvenientul că greutatea proaspătă suferă modificări după condițiile de mediu și în cursul cîntăririi, întrucît materialul este format în cea mai mare parte din apă. Cîntărirea trebuie efectuată imediat după recoltare. Cînd acest lucru nu este posibil, materialul se păstrează în cutie metalică închisă sau în ambalaj impermeabil, pentru a se evita pierderea apei.

b) Măsurarea creșterii prin determinarea greutății uscate este o metodă des folosită. Ea prezintă avantajul că materialul uscat se poate păstra și chiar după intervale mari dă aceleași rezultate la cîntărire, cînd se usucă din nou, în anumite condiții prescrise (v. procedeul de lucru la experiența nr. 47).

Experiența nr. 238

MĂSURAREA CREȘTERII CU MICROSCOPUL ORIZONTAL

Cu microscopul orizontal, dotat cu ocular micrometric, se pot măsura exact mișcările foarte mici de alungire ale vîrfului unui organ vegetal în creștere. Metoda are avantajul că planta pusă sub observație crește în condiții normale, nu este influențată în mod mecanic.

Pentru urmărirea creșterii *coleoptilului*, este bine să se experimenteze cu orz *(Hordeum sativum)*, care este mai puțin sensibil la lumină decît celelalte cereale. Cariopsele se îmbibă și se germinează pe hîrtie umedă de filtru, în cutii Petri, la lumină și la temperatura de 20°C, pînă iese radicula. Atunci se plantează cu pensa, în rînduri drepte de cîte 10, în ghivece mici (cu diametrul de 6 cm), cu pămînt bun. Pentru a obține coleoptile fixe și verticale, sămînța trebuie să fie bine fixată în pămînt,

Scanned with OKEN Scanner

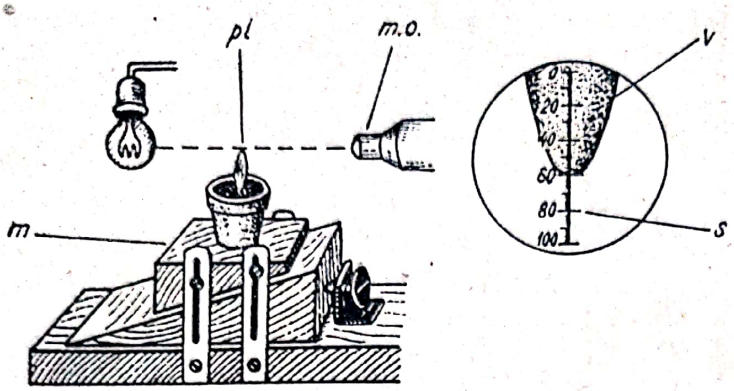


Fig. 171. Măsurarea creşterii cu microscopul orizontal : *m* — măsuţa glisantă în formă de pană ; *pl* — plantula ; *m.o.* — microscopul orizontal ; la dreapta imaginea din microscopul orizontal ; *v* — vîrful plantulei ; *s* — scara micrometrică ; (după Brauner-Bukatsch.).

orientată cu radicula în jos, iar pămîntul nu se stropeşte, ci se aşază ghivecele pe farfurii cu apă. Coleoptilele sînt bune pentru experienţă cînd au atins lungimea de 1—2 cm (plantule germinate de 4—5 zile). Cînd se efectuează măsurările, ghiveciul se fixează în inelul unui stativ sau pe o măsuţă mobilă (fig. 171), care permite ridicarea şi coborîrea lui.

Creşterea *rădăcinii* se poate urmări pe plăntule de mazăre *(Pisum sativum)* sau de bob *(Vicia faba)*, care se cultivă, după imbibiţie de cîteva ore, pe hîrtie umedă de filtru sau în rumeguş de lemn, cu 7, 6 şi 5 zile înainte de experienţă. În preziua experienţei se aleg plantulele cu rădăcini perfect drepte, seminţele se înfăşoară în vată umedă şi se fixează, ca un dop, într-o eprubetă, pe fundul căreia se pune puţină apă aşa ca radicula să atîrne vertical, liber în atmosfera umedă. O altă modalitate este de a suspenda plantulele în soluţia nutritivă dintr-o cuvetă mică, paralelipipedică (înălţimea 6, lăţimea 8, grosimea 1 cm) (fig. 172). Sămînţa se străpunge cu un ac şi se prinde de o bucată de

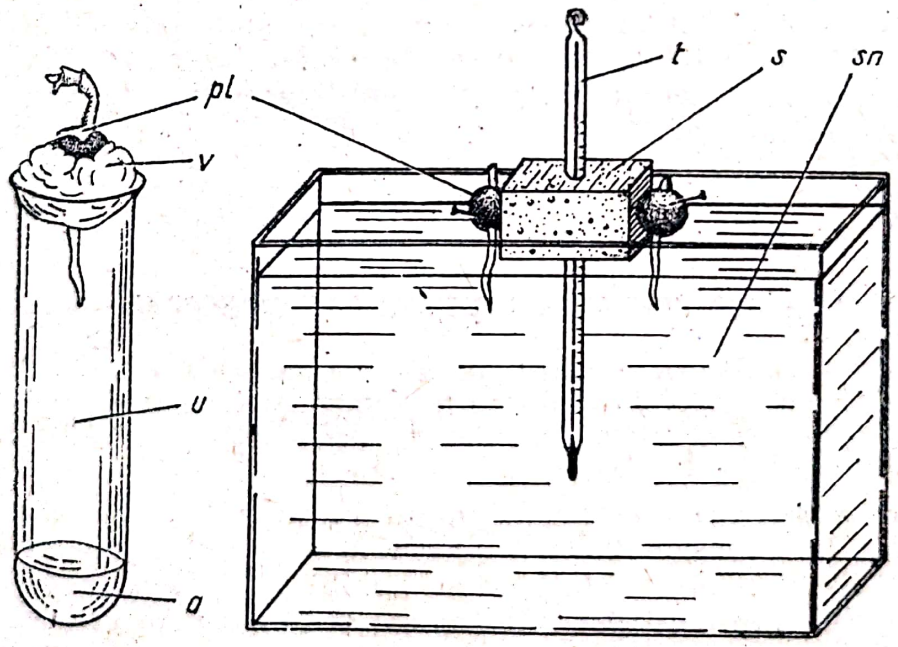


Fig. 172. Fixarea plantulelor pentru urmărirea creşterii rădăcinii cu microscopul : *pl* — plantule de mazăre ; *v* — vată ; *u* — aer umed ; *a* — apă ; *t* — termometru ; *s* — suport de plută ; *s.n.* — soluţie nutritivă (parţial din O. Stocker).

plută fixată cu ceară roșie pe peretele vasului. În cuvă se află un termometru, căci trebuie să ținem seama de temperatură, care influențează foarte mult creșterea.

Măsurările creșterii cu microscopul orizontal se fac într-un loc ferit de trepidații. Coleoptilele se observă în camera obscură, la lumină roșie, pentru a se evita curburile fototropice.

Tubul microscopului se fixează în poziție orizontală și se așază materialul de examinat în fața lui așa ca vîrful organului — care trebuie să crească vertical — să se vadă pe scara verticală a micrometrului ocular (fig. 171).

Tubul microscopului poate fi ridicat, coborît, rotit lateral și deplasat înainte și înapoi. Puterea de mărire a acestui microscop este slabă (circa 20 x), diametrul cîmpului este de 4—10 mm și distanța focală 6—8 sau 20 mm. Scara micrometrică a ocularului are 100—120 de diviziuni. Înainte de a face măsurările, se fixează vertical, în fața obiectivului, o riglă milimetrică și se numără cîte diviziuni de pe micrometru acoperă 1 mm de pe riglă.

Astfel evaluăm valoarea în milimetri a unei diviziuni de pe scara micrometrică (de exemplu, dacă se află că 15 diviziuni corespund unui milimetru, înseamnă că 1 diviziune = 0,066 mm).

Se potrivește diviziunea zero de pe scara micrometrică în dreptul vîrfului coleoptilului (respectiv al rădăcinii). La intervale egale de 5 sau 10 minute citim în dreptul cărei diviziuni se află vîrful. Din media a 5 (sau 10) citiri aflăm creșterea organului, exprimată în diviziuni micrometrice, în timp de 5 sau 10 minute. Calculăm creșterea adevărată în milimetri și în final viteza creșterii, în milimetri pe oră. Datele se trec într-un tabel (tabelul 33), pregătit dinainte.

Tabelul 33

Măsurarea creșterii cu microscopul orizontal

Planta . . . . . Temperatura . . . . . °C

Lungimea coleoptilului (rădăcinii) . . . . . mm

Timpul	Durata experienței, în min	Poziția vîrfului pe scară*	Creșterea în diviziuni de pe scară	Creșterea, în mm	Viteza creșterii, în mm/h.
1) ... ore ... min	...	...	...	...	...
2) ... ore ... min	...	...	...	...	...
3) ... ore ... min	...	...	...	...	...
4) . . ore ... min	...	...	...	...	...
5) ... ore ... min	...	...	...	...	...

*Diviziunea în dreptul căreia se află în momentul citirii.

Microscopul orizontal ne oferă posibilitatea să evaluăm și distanțele mai mari, care depășesc cîmpul microscopului (cînd vîrful obiectului sau semnul făcut pe el a ieșit din cîmp). Stativul este prevăzut cu riglă și cu vernier. Ridicăm sau coborîm (după cum este necesar) tubul,

Scanned with OKEN Scanner

pînă cînd prindem din nou vîrful organului în cîmpul vizual, şi îl fixăm în dreptul diviziunii la care fusese cu ocazia ultimei citiri. Rigla şi vernierul ne permit evaluarea acestei deplasări în milimetri şi în fracţiuni de milimetru.

În lipsa unui microscop orizontal, măsurările se pot face cu un microscop obişnuit, al cărui tub poate fi înclinat orizontal. Se foloseşte un obiectiv slab; pentru durată scurtă însă sau pentru demonstraţii, se întrebuinţează şi obiective puternice.

Experienţa nr. 239

MĂSURAREA CREŞTERII CU AUXANOMETRELE

Auxanometrele sînt dispozitive care servesc la măsurarea creşterii prin întindere a tulpinilor. Cu ajutorul lor se realizează o prezentare amplificată (pe cale mecanică) a pasului de creştere, care se urmăreşte pe o riglă sau pe un arc gradat (auxanometrul sau indicatorul cu arc) ori se înregistrează (auxanograful).

Potrivite pentru această experienţă sînt: plantulele de floarea-soarelui *(Helianthus annuus)*, de lupin *(Lupinus albus)* sau de fasole *(Phaseolus vulgaris)*, înalte de 4—5—10 cm. Acestea se cresc în ghivece mici cu pămînt bun, în lumină de zi, la o temperatură constantă de 22—24°C. Se experimentează bine şi cu *Narcissus*, care are avantajul de a fi slab influenţat de lumina unilaterală. Pămîntul, în care sînt fixate plantulele, se udă bine înainte de experienţă, dar nu se mai stropeşte în cursul observaţiei, pentru a se evita erorile datorite umflării lui.

Instalaţia se face într-un loc ferit de trepidaţii, pe un suport foarte fix: consolă sau pervazul ferestrei. Planta trebuie să primească lumină egală din toate părţile, pentru ca să se excludă curburile fototropice ale tulpinii, care sînt cauza celor mai multe erori. Aceasta se realizează prin luminarea de sus sau prin aşezarea unei oglinzi în poziţie convenabilă.

a) *Indicatorul cu arc.* Drept indicator se foloseşte un fir de pai, lung de 21 cm, din care se face o pîrghie uşoară, cu braţe inegale. Paiul se perforează prin ardere, la distanţă de 1 cm de la capăt, cu un ac de gămălie încălzit în flacără. Acul se trece prin această perforaţie şi el va servi ca axă de rotaţie, fixîndu-se într-un dop de plută susţinut cu clema unui stativ (ca în figura 175). Se obţine astfel o pîrghie, ale cărei braţe sînt în raport de 1 : 20 şi care se roteşte cu minimum de frecare, într-un plan vertical.

În capătul braţului lung al pîrghiei se face o despicătură, în care se fixează un mic triunghi de hîrtie colorată, al cărui vîrf va servi ca indicator.

Vîrful tulpinii se leagă cu un fir inextensibil de extremitatea braţului scurt; pentru ca să nu alunece pe pai, se fixează cu puţină ceară roşie. Firul trebuie să fie inextensibil, din mătase fin împletită. Firele

răsucite își modifică mult lungimea cu variația umidității aerului; pentru a se preveni acest neajuns se recomandă ungerea lor cu ulei sau cu ceară. Atașarea firului de vîrful plantei se face prin legare cu un nod sau prin lipire cu ceară de altoit.

Pentru evitarea rănirii plantei, *Ruge U.* recomandă utilizarea unei legături duble, făcută din 2 fișii din piele moale, de 1×10 cm, cu cîte o tăietură la mijloc (fig. 173). Această legătură se trece strîns în jurul hipocotilului, sub cotiledoane, respectiv sub frunzele primare, sau în jurul scapului. Capetele libere ale fîșiilor se fixează de un cîrlig ușor din sîrmă, prins de firul auxanometrului, după ce s-a intercalat între ele o plăcuță foarte ușoară de lemn.

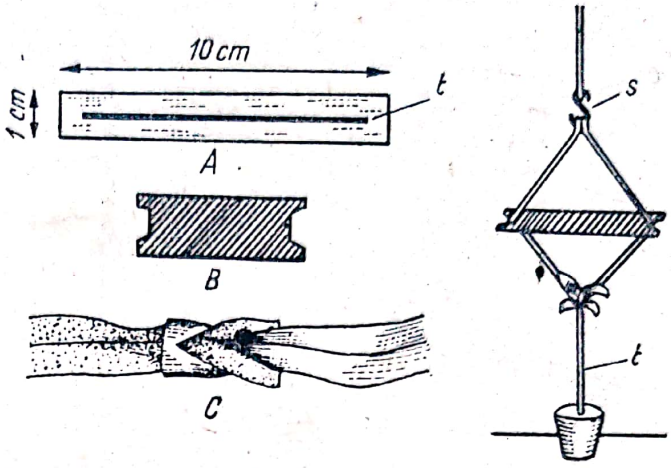


Fig. 173. Dispozitiv pentru legarea tulpinii de firul auxanometrului:
A — fișie de piele; *t* — tăietură; *B* — plăcuță de lemn; *C* — înnodarea celor două fișii; *s* — cîrlig de sîrmă; *t* — tulpină (după U. Ruge).

Cînd planta crește, ea permite ridicarea brațului scurt al pîrghiei și coborîrea celui lung, al cărui vîrf se mișcă în fața unei rigle divizate, așezate vertical. Mișcarea indicatorului se urmărește mai bine dacă rigla dreaptă se înlocuiește cu una în formă de arc. Pe o coală de hîrtie se desenează jumătatea unui cerc cu diametrul de 20 cm. Periferia acestuia se împarte în centimetri întregi, ½ și ¼. Hîrtia astfel gradată se lipește pe o scîndură verticală, fixată pe o talpă orizontală (fig. 174). Acest suport vertical servește și pentru fixarea axului de rotație: acul cu gămălie, înfipt în centrul cercului.

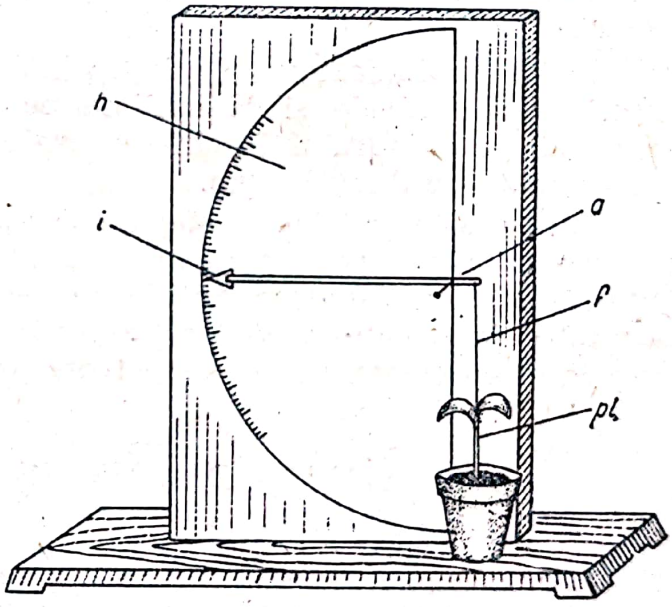


Fig. 174. Auxanometrul sau indicatorul cu arc:
h — hîrtie cu diviziuni; *i* — indicator; *a* — ax de rotație; *f* — fir de mătase; *pl* — plantula.

Se notează poziția indicatorului la intervale de 1 oră. Se calculează creșterea reală a tulpinii, ținînd seama că raportul dintre lungimile brațelor este 1 la 20, ceea ce înseamnă că indicatorul prezintă pasul de creștere amplificat de 20 de ori.

b) *Auxanometrul înregistrator simplu.* Pentru înscrierea curbei de creștere, se poate modifica instalația descrisă pentru indicatorul cu

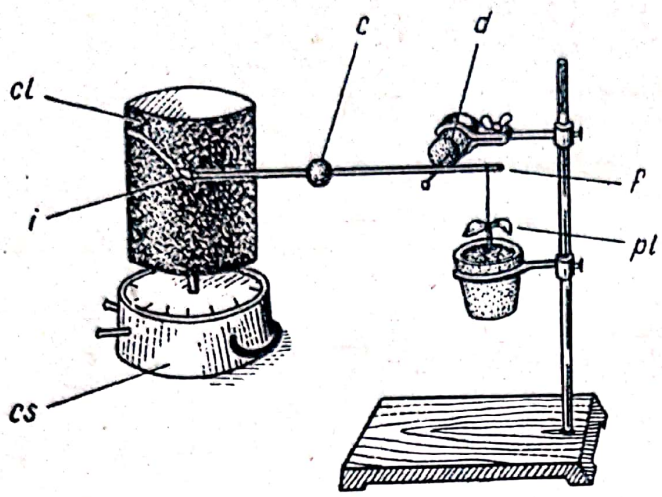


Fig. 175. Auxanometrul înregistrator simplu :
cl — cilindru înnegrit ; *cs* — ceasornic al cărui ax rotește cilindrul ; *i* — înscriitorul ; *c* — ceară ; *f* — fir de pai ; *pl* — plantula ; *d* — dop de plută (după L. Brauner — F. Bukatsch).

arc astfel: se substituie rigla sau arcul gradat cu un cilindru înregistrator, care se rotește pe o axă verticală. În acest scop poate servi o cutie metalică, de formă cilindrică, pentru conserve, care se fixează în locul arătătorului, pe axul unui ceasornic deșteptător solid, așezat orizontal (fig. 175).

Pentru acoperirea cilindrului cu negru de fum se aprinde pe o farfurie, afară, o bucată de vată muiată în benzol și se rotește cilindrul deasupra flăcării.

Ca peniță înscriitoare se folosește un mic triunghi tăiat din hîrtie tare de desen, cu care înlocuim indicatorul de la capătul pîrghiei lungi. Vîrful acestui înscriitor se îndoaie și se sprijină pe suprafața înnegrită, la partea superioară a cilindrului. Pîrghia se echilibrează cu o picătură de ceară roșie lipită pe brațul lung.

Cînd creșterea plantei stagnează, indicatorul lasă o linie orizontală pe cilindru, iar în intervalele cînd planta crește, curba coboară. Distanța verticală dintre pozițiile pe care le-a avut indicatorul la începutul și la sfîrșitul unei ore (respectiv zile) echivalează cu de 20 de ori sporul de creștere în curs de 1 oră (respectiv 24 de ore).

5. SUBSTANȚELE DE CREȘTERE

Substanțele de creștere sînt substanțe reglatoare, care acționează asupra proceselor ce decurg în timpul activității meristematice, de creștere în volum a celulei sau de diferențiere celulară. Se cunosc numeroase substanțe cu rol în creșterea plantelor: hormonii creșterii sau auxinele, substanțele inhibitoare și antiauxinele, kinetinele și substanțele sinergetice, care cuprind o serie de vitamine (inclusiv cele înglobate mai înainte sub numirea de „bios"), precum și giberelina.

Pentru detectarea substanțelor cu activitate de auxine și determinarea concentrației lor, ne servim de testul Avena. Descriem o formă simplificată a *metodei lui F. W. Went* pentru efectuarea acestui test (v. experiența nr. 240 *1*, 2), precum și variantele mai ușor de realizat ale acestui test clasic: procedeul cu *secțiuni de coleoptil* (v. experiența nr. 240, *3*) și varianta cu *tulpini etiolate de Pisum* (v. experiența nr. 241). Punerea în evidență a vitaminelor din grupul *„bios"* se realizează utilizînd ca reactiv biologic ciuperca *Saccharomyces* (v. experiența nr. 242), iar cu testul *Phaseolus* putem dovedi existența hormonilor traumatici din plante (v. experiența nr. 243). Prin ultimele experiențe ale acestei părți (v. experiențele nr. 244—247) se poate urmări acțiunea auxinelor asupra creșterii plantelor.

Experiența nr. 240

DETERMINAREA CONCENTRAȚIEI AUXINEI PRIN TESTUL AVENA

1) *Efectuarea testului Avena* (testul lui *F. W. Went*, simplificat de *S. Kasier* și *H. G. Albaum*).

Proba cea mai bună și mai sensibilă, cunoscută pînă acum, pentru detectarea substanțelor cu activitate de auxine și pentru măsurarea cantității lor este *testul biologic*, în care ne servim de reacția unui organism viu sau a părților sale. Criteriul folosit pentru măsurarea auxinei este alungirea celulară la coleoptilul de ovăz, *Avena* (Went). Acesta este o frunză modificată în formă de teacă ce închide frunzele primare și vîrful tulpiniței plantulei. La plantulele crescute în întuneric și în anumite condiții, diviziunile celulare se continuă pînă ce coleoptilul atinge lungimea de 1 cm. În următoarele 4 zile, alungirea coleoptilului (pînă la 5—6 cm) decurge exclusiv pe socoteala întinderii celulelor.

Auxina, care stimulează această întindere, migrează din vîrful coleoptilului. De aceea, înainte de a proba alungirea coleoptilului prin auxina furnizată de la exterior, trebuie să îndepărtăm vîrful, sursa auxinei endogene. Consecința acestei amputări este sistarea alungirii celulare. Dacă se așază pe o jumătate din suprafața de secțiune a coleoptilului decapitat un minuscul bloc de agar, care conține auxină, celulele de sub el, în care se scurge auxina exogenă, se alungesc mai accentuat decît cele de pe latura opusă a coleoptilului; în consecință, acesta se curbează dinspre partea care se alungește. Testul *Avena* se bazează pe proporționalitatea dintre mărimea acestei curburi și concentrația auxinei din blocul de agar. Cu el se pot măsura 0,00000008 mg de auxină dintr-un bloc de agar de $2 \times 2 \times 1$ mm (= 0,02 mg/l).

a) *Creșterea plantulelor de Avena care vor servi ca test biologic.* Majoritatea cercetătorilor folosesc ovăzul „Victoria" (din Svalöf, Suedia), însă aproape toate varietățile de ovăz pot servi pentru experiențele studenților, dar sînt preferabile cele care se coc tîrziu, căci acestea au o sensibilitate mai mare.

După înlăturarea paleelor, 50 de cariopse se supun următorului tratament:

— 2—3 ore îmbibare în apă (boabele trebuie să se scufunde imediat; cele care plutesc nu sînt bine curățate de palee), la lumină de zi și temperaturi scăzute, pentru ca să fie împiedicată formarea mezocotilului, primul internod;

—, 24 ore germinare pe hîrtie umedă de filtru; cariopsele se așază cu latura scobită în jos, în cutii Petri și se țin în cameră obscură, la întuneric și lumină roșie, la o temperatură de 22—25°C (în termostat);

— 3—4 zile cultivare, tot în camera obscură, în umiditate mare și la 22°C, în modul următor: lucrînd în lumină roșie, semințele germinate se așază în mai multe pahare de 400 ml, căptușite cu hîrtie de filtru bine umectată, care conțin cîte 50 ml de apă de conductă. Se introduc boabele germinate, cu radicula în jos, între hîrtia de filtru și peretele paharului, așezîndu-se pe un singur rînd. Boabele trebuie să fie la 1 cm mai jos de marginea superioară a hîrtiei de filtru și la 2 cm distanță unele de altele (fig. 176). Paharele se acoperă cu clopote de sticlă și plantulele se cresc în continuare la întuneric, pînă cînd coleoptilele ating lungimea de 20—40 mm (3—5 zile).

Scanned with OKEN Scanner

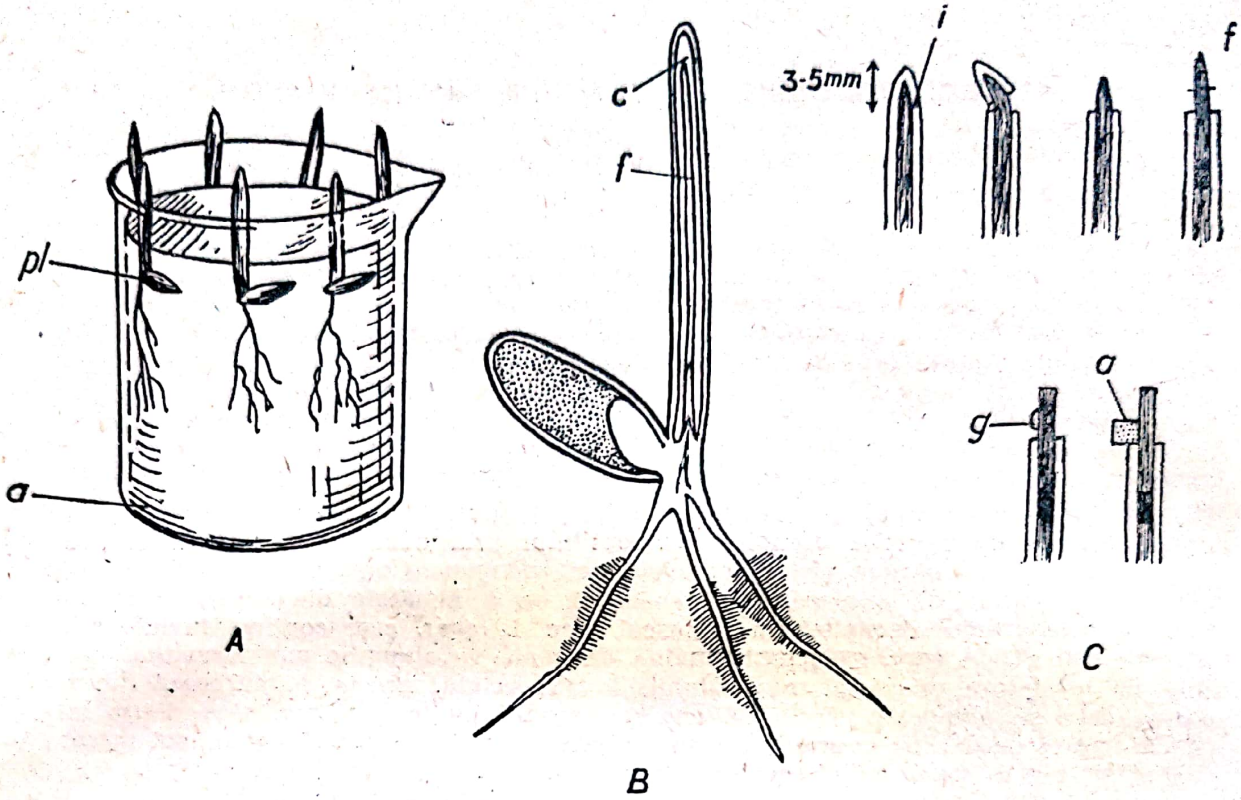


Fig. 176. Pregătirea testului *Avena*:

A — creşterea plantulelor de ovăz: *pl* — plantule între peretele paharului şi hîrtia de filtru; *a* — apă; *B* — plantulă de ovăz: — frunză primară; *c* — coleoptil; *C* — prepararea coleoptilelor şi ataşarea blocului de agar: *i* — incizie; *f* — frunza primară trasă în sus; *g* — gelatină; *a* — agar (după L. Brauner — F. Bukatsch, A. Guilliermond, S. B. Meyer).

Plantulele se pot cultiva şi semănînd cariopsele îmbibate în cutii mici de tablă (1 × 1,5 × 5 cm) cu pămînt cernut. Acestea se ţin într-o încăpere întunecată, cu umiditatea relativă a aerului de 95%.

b) *Extragerea şi captarea auxinei din materialul vegetal.* Se face cu 2—3 ore înainte de începerea experienţei. În 2 cutii Petri se varsă soluţie fierbinte 3% agar, într-un strat gros de 1—1,5 mm şi se lasă să se solidifice. Se păstrează în cameră obscură şi foarte umedă (saturată cu vapori de apă), pentru ca agarul să nu se usuce, şi tot aici se captează în el auxina.

Pe suprafaţa agarului dintr-o cutie Petri (I) se pune materialul vegetal de studiat, adică pe care îl încercăm în privinţa conţinutului în auxine: vîrfuri de coleoptile de ovăz, muguri, secţiuni de la baza frunzelor tinere sau alte fragmente de ţesuturi vegetale. Acestea se aşază direct sau se lipesc cu gelatină 5% cu suprafeţele de secţiune pe agar. Se lasă în contact 2 ore. Agarul din altă cutie (II) rămîne netratat şi serveşte în experienţele-martor.

După 2 ore îndepărtăm materialul vegetal, iar placa de agar se mai lasă 1/2—1 oră în camera obscură înainte de a tăia din ea blocurile.

Agarul urmează să fie tăiat în cuburi după captarea auxinei. Se poate proceda însă şi fragmentînd placa de la început şi aşezînd cîte un coleoptil pe fiecare cub în parte.

Dacă avem de încercat extracte, atunci amestecăm bine soluția lichidă de 3% agar cu extractul de examinat și lăsăm apoi să se solidifice. Pentru ca substanța de creștere să se repartizeze omogen în masa agarului, acesta se mai lasă cîteva ore după solidificare în camera saturată cu vapori, în întuneric. Ulterior se împarte în blocuri.

c) *Pregătirea testului Avena.* Cînd se îndepărtează materialul vegetal de pe placă, se începe operația de decapitare a coleoptilelor, care se desfășoară tot în lumina fototropic inactivă (roșie).

Se aleg pahare (sau cutii cu pămînt) în care sînt cîte 10—12 plantule crescute complet drept și se decapitează astfel (fig. 176 *c*): Cu o lamă de ras sau cu un scalpel se face o incizie laterală în coleoptil, la 3—5 mm mai jos de vîrf. Nu se taie însă adînc, pentru ca frunza primară din interiorul coleoptilului să rămînă nelezată. După aceea se rupe cu grijă vîrful coleoptilului, aplecîndu-l întîi într-o parte și ridicîndu-l apoi cu pensa (vîrfurile pensei se îmbracă în plută sau în cauciuc). Acum frunza primară iese din mijlocul tecii coleoptilului. Cu aceeași pensă o tragem puțin în sus; ea se rupe, însă fragmentul rămîne prins în tubul coleoptilului și va servi ca suport lateral pentru blocul de agar. Vîrful frunzișoarei se retează. Coleoptilele astfel preparate se lasă ½ de oră în repaus, după care se elimină exemplarele curbate. Pe cele rămase perfect drepte se aplică blocurile de agar.

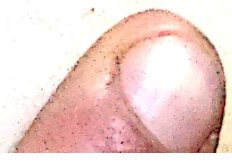
Pentru a obține plante-test mai sensibile, care nu și-au regenerat „vîrful fiziologic", facem două decapitări succesive, în loc de una: se lucrează în modul descris, însă incizia se face ceva mai sus, la 2—3 mm sub vîrf. După 2 ore de la prima decapitare, se efectuează o nouă secționare, prin care îndepărtăm încă un disc de 1—2 mm. După 10—15 minute se poate aplica agarul.

d) *Tăierea și aplicarea blocurilor de agar.* Din cele două plăci de agar (I cu auxină și II netratată) se taie blocuri egale, de $2 \times 2 \times 1$ mm, folosind o bucată de plută în care am înfipt solid mai multe lame de ras, la distanțe egale de 2 mm una de alta. La jumătate din coleoptilele decapitate dintr-un pahar se aplică agar tratat, la restul testelor agar netratat. Blocurile se lipesc pe suprafața de secțiune a coleoptilelor, unilateral, cu o picătură de gelatină (5—15%). Picătura de gelatină se poate aplica pe latura frunzei (fig. 176, *c*).

Blocurile de agar se lasă ½—2 ore. Se observă diferențele de curbură provocate de blocurile de agar la coleoptilele din cele două serii. Se poate proiecta umbra coleoptilelor pe un ecran, în lumină roșie.

2) *Aplicarea testului Avena pentru demonstrarea dependenței unghiului de curbură de concentrația auxinei din blocul de agar.*

Se efectuează testul Avena cu blocuri de agar care conțin concentrații diverse de auxină. Pentru valoarea medie se folosește blocul de $2 \times 2 \times 1$ mm, pe care a stat un vîrf de coleoptil timp de 2 ore. Pentru concentrații mai mari ne servim de blocuri dinainte tăiate, pe care s-au ținut, aceeași durată de timp, un număr de 2, 3, respectiv 4 vîrfuri de coleoptile. Concentrațiile mai mici le obținem pornind de la blocuri de agar pe care a stat cîte un singur coleoptil, prin diluarea la ½, ¼, ⅛ etc. cu agar 3%. Pentru fiecare concentrație facem încercarea cu cel



puțin 10 plante-test și stabilim valoarea medie a unghiurilor de curbură. Reprezentăm grafic pe hîrtie milimetrică valoarea unghiurilor de curbură în dependență de numărul vîrfurilor de coleoptile care au stat pe agar.

Se constată că mărimea unghiului de curbură crește proporțional cu concentrația auxinei numai în anumite limite și că auxinele în concentrații mari inhibă creșterea (provoacă curburi în sens invers), în loc să o accelereze.

Pentru a putea determina cantitativ, prin comparație, cantitățile de substanțe de creștere extrase din diverse organe vegetale, trebuie să ne construim întîi o curbă-test (grafic în care este redat raportul dintre concentrațiile de auxină și valoarea unghiului de curbură al coleoptilului *Avena*). În acest scop experimentăm cu o serie de concentrații precise de substanță de creștere, din comerț. Ne folosim de acid β-indolilacetic, în concentrații cuprinse între 0,01 și 0,00001 normal (reactivul 5 *a*).

3) *Testul Avena cu segmente de coleoptil (Bonner din Machlis).* O variantă mai simplă a testului *Avena* constă în scufundarea unor segmente cilindrice egale de coleoptil, fără vîrf (suprimarea sursei de auxină endogenă!), în soluțiile substanțelor active și aprecierea efectului acestora prin sporul în lungime al segmentelor.

Se folosesc exemplare drepte de plantule de *Avena*, crescute după procedeul descris în experiența nr. 240, *1*. Lucrînd în lumină roșie și repede, se așază mai multe plantule paralel, unele lîngă altele, pe un bloc de parafină sau de plută, așa ca vîrfurile lor să fie într-o linie. Se fac apoi la toate coleoptilele deodată două tăieturi simultane, prin care se retează din fiecare 2—3 mm de la vîrf și se separă cîte un segment lung de 10 mm, sub prima secțiune. În acest scop ne servim de un tăietor special, confecționat din 2 lame de ras, pe care le-am fixat bine într-un mîner de plută sau într-un suport metalic, la distanța exactă de 10 mm una de alta (fig. 177).

Din fiecare coleoptil folosim un singur segment. Se pun imediat cîte 10 astfel de segmente egale în fiecare din cele 4 cutii Petri, dinainte pregătite, care conțin soluții de acid β-indolilacetic în concentrațiile descrescînde de:

I	II	III	IV	
10	1,0	0,1	0,01	miligrame la litru.

Soluțiile se prepară plecînd de la o soluție inițială de 100 mg/l, care se obține astfel: se dizolvă 100 mg de acid β-indolilacetic în 1—2 ml de alcool etilic absolut și i se adaugă aproximativ 900 ml de apă. Pentru ca să se evapore alcoolul se încălzește ușor (fără a depăși 40°C), iar în final se completează cu apă la 1 l.

În fiecare cutie Petri se pun cîte 18 ml de soluție proaspătă de zaharoză 2%. La I se adaugă 2 ml de soluție inițială de acid β-indolilacetic și se

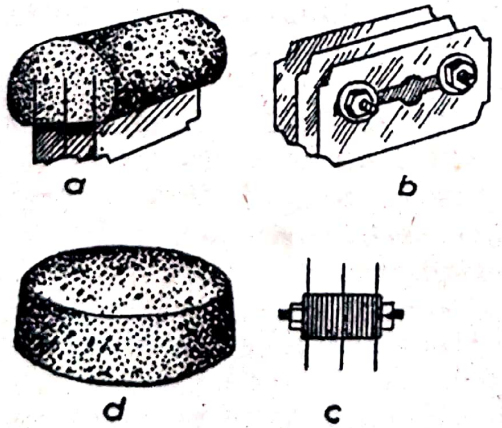


Fig. 177. Dispozitive pentru tăiat segmente de coleoptil:
a — lame de ras fixate în plută; *b* și *c* — lame fixate în suport metalic; *d* — suport de plută (după L. Brauner — F. Bukatsch).

agită; rezultă astfel concentrația de 10 mg/l. Pentru a obține soluția următoare, de 10 ori mai diluată, după ce am omogenizat, scoatem cu o pipetă curată 2 ml din soluția I și punem în vasul II. Din nou se omogenizează, apoi se trec 2 ml de soluție din II în III, și prin același procedeu din III în IV.

După ce s-au scufundat în fiecare cutie cîte 10 segmente de coleoptile, se păstrează la întuneric și la temperatură de 25°C, timp de 48 de ore. La urmă se măsoară din nou lungimea secțiunilor (cu o riglă milimetrică, servindu-ne de lupă) și se calculează valoarea medie a lungimii pentru fiecare variantă. Datele se consemnează într-un tabel (tabelul 34).

Tabelul 34

Testul Avena cu segmente de coleoptil

Concentrația acidului β-indolilacetic mg/l		Lungimea medie a segmentelor mm	Sporul mediu în lungime mm
I	10	...	...
II	1,0	...	...
III	0,1	...	...
IV	0,01	...	...

Se exprimă grafic valorile aflate, pe hîrtie milimetrică, notîndu-se pe orizontală concentrațiile substanței de creștere (logaritmul concentrației), crescînd spre dreapta, iar pe verticală sporul mediu al lungimii, în milimetri, crescînd de jos în sus.

Experiența se poate efectua și în următoarea variantă: coleoptilele se decapitează cu 2 ore înainte de segmentare. Segmentele se fac mai scurte decît în procedeul descris: de 3 mm lungime, și se taie cîte 2 bucăți din fiecare coleoptil. Se lucrează cu 2 serii: *a)* 20 de segmente, care vor servi ca martor, se păstrează în soluție 1% glucoză și *b)* 20 de bucăți în soluție 1% glucoză, care conține 10^{-3}, 10^{-8}% acid β-indolilacetic. După ce au stat 24 de ore la întuneric, se face măsurarea lungimii. Aceasta nu se execută la fiecare segment în parte, ci se stabilește lungimea totală a celor 20 de segmente așezate cap la cap, în cazul fiecărei serii. Se reprezintă grafic rezultatele, redînd într-o curbă procentul sporului de creștere în funcție de concentrația auxinei, raportat la martor.

Experiența nr. 241

DETERMINAREA CONCENTRAȚIEI AUXINEI PRIN TESTUL PISUM

a) *Varianta cu tulpini etiolate de* **Pisum** *a testului cu segmente de coleoptil* (Meyer-Anderson Swanson). Se cresc plantule de mazăre, în lădițe cu nisip, la întuneric, și cînd tulpinile au ajuns de 20 cm, se taie din ele cîte 1—2 segmente, lungi de 5 mm, din porțiunea dreaptă, cea mai apropiată de vîrf. Se scufundă cîte 5 segmente în fiecare din cutiile Petri, în care se află seria de concentrații de acid β-indolilacetic cu conținut de zaharoză, preparate după procedeul descris la experiența nr. 240, 3, precum și într-o cutie de control cu apă distilată plus zaharoză, dar fără adaos de auxină. După ce au stat 24 de ore în camera obscură, se măsoară lungimea fiecărui segment, apoi

Scanned with OKEN Scanner

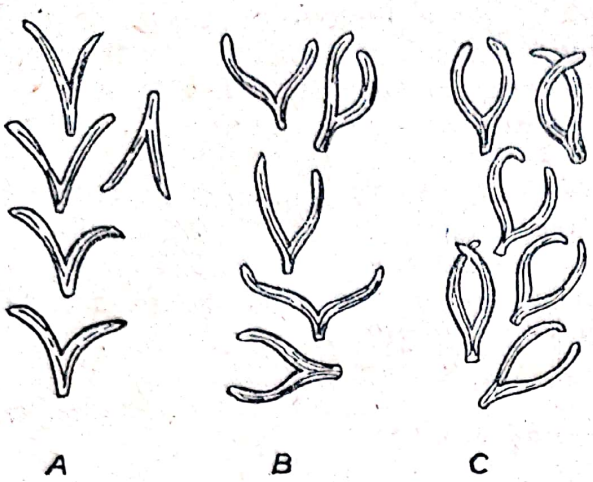


Fig. 178. Testul despicăturilor de mazăre pentru determinarea concentrației auxinei:
A — martor în apă; *B* — în concentrație mică; *C* — în concentrație mare de substanțe de creștere (după L. Brauner — F. Bukatsch).

se exprimă grafic sporul lungimii în funcție de concentrația substanței de creștere.

b) *Testul despicăturilor de mazăre „Split pea"* (Went). Se lucrează cu plantule de mazăre Alaska, crescute timp de o săptămînă la întuneric. Se prepară 100 de bucăți de segmente despicate din tulpini de mazăre astfel: Se retează vîrful tulpinii plantulei la 5 mm sub mugurele terminal. Capătul secționat se despică în lung, pe o distanță de 3 cm, cu ajutorul unei lame de ras, apoi se taie jos, secționîndu-l transversal, la distanță de 1 cm sub despicătură. Segmentele despicate se țin în apă 1 oră, în care timp se pregătesc și se repartizează în cutii Petri soluțiile de substanțe de creștere: serii de concentrații de acid β-indolilacetic, de exemplu cuprinse între 10^{-3} și 10^{-8}% (modul de preparare este descris în experiența nr. 240, 3). În fiecare soluție, precum și într-o cutie de control cu apă, se pun 10—15 segmente de tulpini despicate de mazăre și se păstrează 6—24 de ore la întuneric, după care se compară curburile survenite. La segmentele din apă (fără substanțe de creștere), cele două vîrfuri ale despicăturilor se curbează în afară (se îndepărtează, fig. 178). Dimpotrivă, în prezența auxinelor au loc curburi spre interior (vîrfurile se apropie) și acestea sînt cu atît mai accentuate cu cît este mai mare concentrația substanței de creștere.

Experiența nr. 242

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A „BIOSULUI" PRIN TESTUL SACCHAROMYCES (DUPĂ K. RIPPEL)

Se prepară o soluție nutritivă pentru drojdii după rețeta lui Boas:

glucoză	50	g
KH_2PO_4	1,6	g
K_2HPO_4	0,3	g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1,0	g
$(NH_4)_2SO_4$	2,0	g
$CaCl_2 \cdot 6H_2O$, NaCl, $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$	cîte 0,5	g
H_3BO_3, $ZnSO_4$, $MnSO_4$	cîte 0,02	g
$FeCl_3$	0,02	g
H_2O distilată	1	litru

Se sterilizează la autoclav ½ oră, apoi se repartizează cîte 50 ml în baloane Erlenmeyer, de 100 ml, prevăzute cu dopuri de vată. Se adaugă în fiecare recipient cîte 2 ml din extractul de analizat (în care dorim să punem în evidență substanța de creștere „bios").

Extractul se obține din 2 g de material vegetal mărunțit (de exemplu plantule de cereale), care se încălzește în 25 ml de apă, timp de 1 oră, pe o baie de apă de 70°C. După adăugarea extractului, soluția se sterilizează din nou ¾ de oră în vapori fără presiune (cu robinetul autoclavului deschis). Se lasă să se răcească, iar în urmă se însămînțează punîndu-se în fiecare, cu pipeta sterilă, cîte o picătură din suspensia de drojdii. Drojdia se procură de la o fabrică de bere, se spală și se obține o suspensie în care să fie circa 20 de celule la 1 mm^3. După însămînțarea cu drojdii, soluțiile se păstrează 3 zile în termostat, la temperatura de 30°C.

Prezența biosului în materialul de analizat provoacă intensificarea înmulțirii drojdiilor. De aceea, în acele recipiente în care se găsește bios, lichidul nu va mai fi limpede, ci mai mult sau mai puțin tulbure, după concentrația substanțelor de creștere. Viteza de înmulțire a drojdiilor, din care deducem concentrația biosului în materialul analizat, se poate aprecia prin evaluarea grosimii sedimentului de drojdii, format prin centrifugarea suspensiei, în eprubete conice calibrate.

Experiența este instructivă cînd se execută probe pentru conținutul în bios al mugurilor de la un copac foios, la intervale diferite. Se fac extracte din cîte 10 g de muguri mărunțiți I iarna (în ianuarie sau februarie), cînd sînt în repaos, și II primăvara, din muguri care se deschid. Se află că conținutul în bios este foarte redus în primul caz și sporește primăvara.

Experiența nr. 243

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A HORMONILOR TRAUMATICI PRIN TESTUL PHASEOLUS (DUPĂ WEHNELT)

Cicatrizarea rănilor la plante este provocată de anumite substanțe active (hormoni traumatici, traumatine), care se formează în celulele lezate. Ele declanșează mitoze în celulele diferențiate.

Pentru a dovedi existența hormonilor traumatici ne servim de păstăi de fasole, tinere, verzi și netede. Se despică în lung, separînd cele două jumătăți ale păstăilor, apoi se fragmentează prin tăieturi transversale între semințe (fig. 179). Se aruncă cele două capete (vîrful și baza) și se înlătură semințele așa încît se obțin fragmente de forma unor mici farfurioare. Acestea se așază în serie (de exemplu, cîte 30 de bucăți), cu concavitatea în sus, în cutii Petri, pe hîrtie umedă de filtru, și în fiecare scobitură se pune, cu pipeta, cîte o picătură din extractul de încercat (adică din soluția despre care dorim să ne convingem dacă conține sau nu conține hormoni traumatici). Ca material cu hormoni

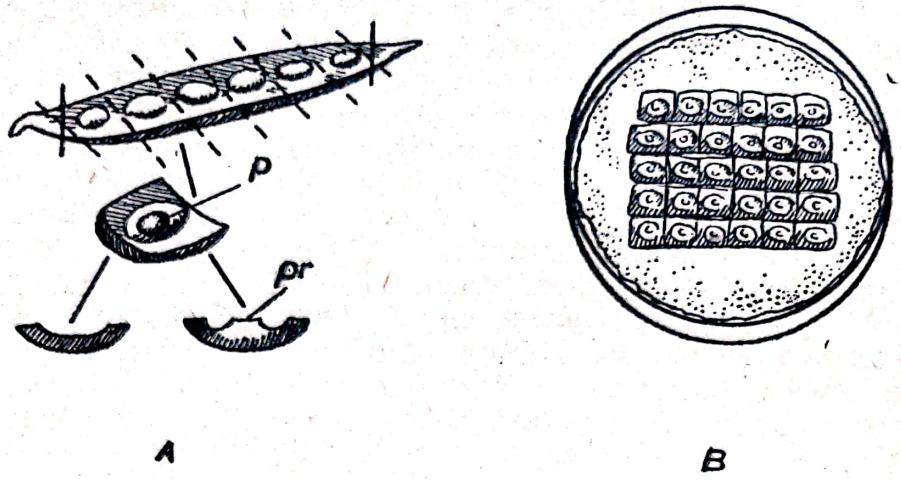


Fig. 179. Procedeul punerii în evidenţă a hormonilor traumatici prin testul *Phaseolus*: *A* — prepararea păstăii de fasole; *p* — picătură de extract; *pr* — protuberanţă; *B* — seriile de fragmente în cutia Petri (după Wehnelt din Brauner — Bukatsch şi U. Ruge).

se poate utiliza sucul presat din plantule mărunţite de mazăre, fasole, tomate etc. Cutiile Petri, acoperite cu capace, se păstrează 48 de ore în termostat, la 25°C. După acest timp se îndepărtează picăturile prin spălare şi se fac secţiuni transversale, care să taie regiunea pe care a stat picătura. Acestea se examinează la microscopul cu mărire slabă sau cu lupa.

Fragmentele în care a fost apă (martor) sau picături de lichid fără hormoni traumatici au suprafaţa internă concavă netedă. În cele care au venit în contact cu hormoni traumatici s-au format, sub acţiunea acestora, ţesuturi noi pe pericarp, sub forma unor mici cratere (fig. 179). Uneori aceste protuberanţe se pot observa macroscopic; mărimea lor este un indiciu asupra cantităţii de hormoni traumatici din extract.

Experienţa nr. 244

ACŢIUNEA AUXINEI ASUPRA CREŞTERII TULPINII ŞI RĂDĂCINII

a) *Importanţa auxinei pentru creşterea tulpinii.* Se cultivă din timp, în 3 ghivece, cîte 10 plantule de floarea-soarelui *(Helianthus annuus)*, pînă ce tulpinile au atins lungimea de 4 cm.

Se prepară două paste, una cu auxină (în 5 g de lanolină încălzită se amestecă 5 ml de soluţie apoasă caldă de acid β-indolilacetic 1 : 5 000 sau 0,001 *n* — reactivul 5 *b* — pînă se obţine o pastă omogenă) şi alta cu apă (la fel cu precedenta, însă cu 5 ml apă caldă, în loc de soluţia de auxină).

Hipocotilele din loturile I şi II se taie la 4 mm sub locul de inserţie al cotiledoanelor; înlăturînd vîrful, suprimăm sursa de auxină endogenă. Cele din III (martor) nu se decapitează.

Suprafața de secțiune a plantelor din I se unge cu pastă de auxină, cu ajutorul unui bastonaș de lemn, iar a celor din II cu pastă cu apă.

Se urmărește creșterea în lungime timp de două zile. Plantele din III, cu auxina endogenă, și cele din I, cu auxina furnizată de la exterior, cresc normal. Cele din II, lipsite de auxină, nu cresc.

b) *Consecința decapitării la tulpină și rădăcină.* Se determină viteza de creștere prin măsurători făcute cu microscopul orizontal (v. experiența nr. 238) la: *a)* hipocotilele de floarea-soarelui *(Helianthus annuus)* lungi de 4—6 cm sau coleoptile de porumb *(Zea mays); b)* rădăcinițele semințelor germinate de bob *(Vicia faba)* sau fasole *(Phaseolus vulgaris).* Măsurătorile se fac mai ușor dacă se marchează organele cu tuș (v. experiența nr. 230), trasînd, în zona lor de maximă alungire, cîte 2 liniuțe orizontale, la distanță de 1—2 mm.

După ce se stabilește viteza normală de creștere, se repetă determinările pe organele decapitate, adică în care s-a micșorat concentrația de auxine. Decapitarea se face tăind la hipocotile vîrful la 4—6 mm sub punctul de inserție al cotiledoanelor; la coleoptile, la 3 mm de la vîrf, iar la rădăcini se taie jos un segment de 1—2 mm de la vîrf.

Se constată că tulpinița (hipocotilul și coleoptilul) își sistează creșterea în urma decapitării. Dimpotrivă, rădăcina își accelerează temporar creșterea după îndepărtarea vîrfului. Cele două organe au sensibilitate deosebită față de auxine. Concentrația naturală în auxine este corespunzătoare pentru stimularea creșterii la tulpină, pe cînd pentru rădăcini ea este supraoptimală.

c) *Curbarea tulpinii și rădăcinii în urma aplicării de auxină.* Datorită sensibilității diferite față de concentrația auxinei, cele două organe, rădăcina și tulpina, se curbează în sens opus atunci cînd aplicăm pe ele, unilateral, pastă cu substanță de creștere.

Pentru observarea reacției la tulpină folosim plante tinere, în ghivece, de *Coleus,* la care se unge pe o parte tulpina cu puțină pastă de auxină (v. experiența nr. 244, a), apoi se stropește bine pămîntul și se păstrează plantele la un loc cald și umed, în lumină difuză. Latura tratată crește mai intens, cauzînd curbarea tulpinii.

Reacția rădăcinii se poate urmări pe rădăcinițe, de 1—2 cm, de bob *(Vicia faba),* fixate în camera umedă (v. experiența nr. 230, *a,* fig. 155). Se aplică unilateral pasta cu auxină la distanța de 1 mm de la vîrf. În 6 pînă la 24 de ore se observă că — contrar tulpinii — plusul de auxină întîrzie creșterea la rădăcină; aici flancul opus celui tratat se alungește mai mult.

Experiența nr. 245

EFECTUL AUXINELOR ASUPRA RIZOGENEZEI

Pentru a cunoaște efectul pe care îl au auxinele asupra formării de rădăcini adventive, se urmărește înrădăcinarea la două serii de butași egali, tratați și netratați cu substanțe de creștere. Un număr

de 40 de butași de *Tradescantia*, la care s-au îndepărtat frunzele de pe partea inferioară, se împart în două serii de cîte 20: I se tratează ținîndu-se o zi cu capătul inferior scufundat într-o soluție 0,02% acid β-indolilacetic, în camera obscură (soluția se prepară proaspătă: se dizolvă substanța în 1—2 ml de alcool etilic 95%, apoi se adaugă cantitatea necesară de apă și se agită puternic). Seria II se păstrează același timp în apă fără adaus de auxină. După aceea, butașii se pun la înrădăcinat: fiecare serie în cîte o lădiță cu nisip umed (ori în flacoane de sticlă cu apă de conductă, îmbrăcate în hîrtie neagră), și se păstrează la căldură și umezeală. După două săptămîni se scot, se spală și se examinează, stabilindu-se numărul de rădăcini și media lungimii rădăcinilor, în milimetri, pentru fiecare serie. Comparînd cifrele obținute, se află că tratamentul cu auxină stimulează rizogeneza.

Experiența reușește și cu viță-de-vie *(Vitis vinifera)*, salcie *(Salix viminalis)* sau cu laur *(Ilex aquifolium)*. În lipsa acestor materiale se pot folosi hipocotilele plantulelor de mazăre crescute în nisip umed, într-o cameră obscură, pînă au atins lungimea de 15 cm. Din aceste plantule se taie butași egali de 12—15 cm, iar la tratament capetele secționate se scufundă la o adîncime de 6—8 cm în soluție de 0,01% acid β-indolilacetic, după care se trec în nisip.

În loc de scufundare în soluție de auxină se poate unge secțiunea cu pastă de auxină (procurată din comerț, sau pe care o preparăm cum s-a descris în experiența nr. 244, a), după care butașii se trec imediat în nisip.

În lipsa auxinei din comerț se poate face tratamentul cu substanța de creștere din bobul germinat de grîu. Se taie sub apă butași de *Nerium oleander* și li se face o despicătură de 2 cm la capătul bazal, în care se introduce cîte un bob de grîu. Butașii se fixează în capacele de carton ale unor vase mari cu apă (îmbrăcate în hîrtie neagră), așa ca să fie scufundate la 2—3 cm sub nivelul ei. Se montează și experiențe-martor cu butași fără grîu. După 6 săptămîni se compară formarea rădăcinilor adventive de la exemplarele tratate și de la martori, constatîndu-se o înrădăcinare mai bună în prezența substanțelor de creștere din bobul de grîu.

Experiența nr. 246

ACȚIUNEA SUBSTANȚEI DE CREȘTERE 2,4 – D (ACID 2,4 – DICLORFENOXIACETIC) ASUPRA MONO – ȘI DICOTILEDONATELOR

Se seamănă semințe amestecate, de cereale și de buruieni, în aer liber sau în lădițe cu pămînt. După ce au răsărit, plantele se stropesc cu soluție 0,5% *2,4-D* (acid 2,4-diclorfenoxiacetic), socotind 200 ml la 1 m^2. După o săptămînă se observă îmbolnăvirea dicotiledonatelor, iar în 2—3 săptămîni acestea mor, pe cînd monocotiledonatele continuă să crească. Această acțiune selectivă a substanței *2,4-D* asupra buruienilor și cerealelor se aplică în plivitul chimic.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 247

PRODUCEREA FRUCTELOR PARTENOCARPICE DE TOMATE ÎN URMA TRATAMENTULUI CU 2,4–D (ACID 2,4–DICLORFENOXIACETIC)

Se cresc în seră două loturi separate de pătlăgele roșii *(Solanum lycopersicum)*. Tratamentul cu substanțe de creștere se începe imediat ce s-au deschis primele flori dintr-o inflorescență. Substanța de creștere se administrează sub formă de soluție *2,4-D* 0,3 mg/l (după Brauner—Bukatsch și Ruge), obținută prin diluarea unei soluții inițiale 1 : 10 000 cu 300 părți apă. S-au obținut fructe partenocarpice la pătlăgelele roșii și prin stropire cu soluție 2,4-D, 10 mg/l (H. Chirilei). Se ocrotesc frunzele acoperindu-le cu cartoane și se pulverizează bobocii florali cu această soluție, folosind o pompă Flit. Tratamentul se repetă la unele plante o dată la 8 zile după prima stropire, la altele o dată pe zi timp de o săptămînă, în fine la altele zilnic de 3 ori în cursul unei săptămîni. Stropirea se face cu circa 5 ml de soluție la o inflorescență. Plantele din lotul-martor se stropesc cu apă.

Se urmărește dezvoltarea plantelor pînă la coacerea fructelor. Florile tratate dau fructe chiar cînd este exclusă fecundația, iar fructele lor se coc mai timpuriu și sînt fără semințe.

6. REGENERARE, POLARITATE, CORELAȚII

Experiențele nr. 248—250 ne servesc pentru cunoașterea unor procese strîns legate de creștere: regenerarea, polaritatea, corelațiile organismului vegetal. În urma rănirii celulelor vegetale se nasc substanțe active care fac ca celulele mature să reînceapă a se divide, ducînd la formarea de calus sau chiar la refacerea întregului organ amputat, adică la *regenerare* (v. experiența nr. 248, *a, b, c*). Aproape la toate organismele vegetale se observă o polaritate, adică în organizația lor există un vîrf și o bază sau un pol apical și unul bazal, care reacționează diferit din punct de vedere fiziologic și morfologic. *Polaritatea* se poate observa ușor în procesele de restituție (v. experiența nr. 249, *a, b*). Diversele părți ale organismului vegetal sînt corelate între ele. Una dintre manifestările *corelațiilor* dintre părțile plantei este *dominanța apicală:* auxina, care coboară din mugurele terminal în tulpină, inhibă dezvoltarea mugurilor laterali, determinînd creșterea continuă doar a unui singur ax caulinar (v. experiența nr. 250).

Experiența nr. 248

REGENERAREA LA RĂDĂCINI, TULPINI ȘI FRUNZE

a) *Regenerarea la rădăcini.* Primăvara se scot din pămînt mai multe plante de păpădie *(Taraxacum)*, săpînd la adîncime, ca să scoatem rădăcinile tinere. Acestea se spală și se taie în bucăți, formînd butași cu lungimea de 2—3 cm. Aceștia se plantează în pămînt la o adîncime de 2 cm sau se cresc 3—4 săptămîni în lădițe cu nisip umed, stropit și cu soluție nutritivă Knop, care se țin la căldură și lumină. Pe fiecare segment de rădăcină vor apărea lăstari și se va forma prin regenerare cîte o plantă întreagă.

Sînt și alte plante capabile de a da muguri și lăstari din rădăcini. Segmente de 8—10 cm lungime din rădăcinile de zmeur, mur, cireș, prun ș.a., îngropate în pămînt la o adîncime de 3—6 cm, cu capătul

Scanned with OKEN Scanner

superior în sus, prezintă fenomenul regenerării. Butaşii radiculari, de 3—4 cm, de susai şi volbură, spre deosebire de cei de păpădie, dau lăstari pe toată suprafaţa.

b) *Regenerarea la tulpini şi ramuri.* Fragmentele de ramuri de salcie, muşcată, *Tradescantia*, desprinse de planta-mamă şi implîntate cu capătul tăiat în nisip umed, vor forma calus pe suprafaţa secţionată şi mai tîrziu rădăcini adventive. În experienţa nr. 245 s-a văzut că butaşii din tulpinile de *Tradescantia* şi din ramurile de *Nerium oleander* rădăcinează dacă se ţin în apă, iar experienţa nr. 249 arată că segmentele ramurilor de salcie prezintă fenomenul de regenerare cînd se păstrează suspendate într-o atmosferă saturată cu vapori de apă.

c) *Regenerarea la frunze.* Experienţele de regenerare la frunze se execută primăvara sau vara. Frunzele unor plante sînt capabile să înrădăcineze, fără a forma muguri, deci nu dau plante noi. Astfel, pe peţiolul frunzei de *Aucuba japonica*, ţinut în apă, se formează rădăcini adventive (fig. 180, *A*), iar frunza poate trăi aşa unul sau mai mulţi ani. Experienţa reuşeşte şi cu frunze de *Ficus* sau de lămîi. Sînt şi plante ai căror butaşi de frunză pot forma şi muguri. Frunza de zambilă *(Hyacinthus orientalis)*, tăiată şi implîntată cu baza în nisip umed, dă rădăcini şi mici bulbi (fig. 180, *B*). Frunza de *Begonia rex* se aşază cu faţa inferioară pe nisip umed, implîntîndu-se cu secţiunea peţiolului în acest substrat. Limbul se poate fixa pe nisip cu cuie mici de lemn, trecute prin tăieturile făcute cu o lamă de ras în cîteva locuri de pe nervură. Pe tăieturi se va forma calus. În secţiunile examinate la microscop se vede că din celulele epidermice ale feţei superioare se formează, prin diviziune, un ţesut embrionar (fig. 181). Mai tîrziu apar rădăcini adventive, apoi muguri care dau lăstari şi astfel se regenerează întreaga plantă.

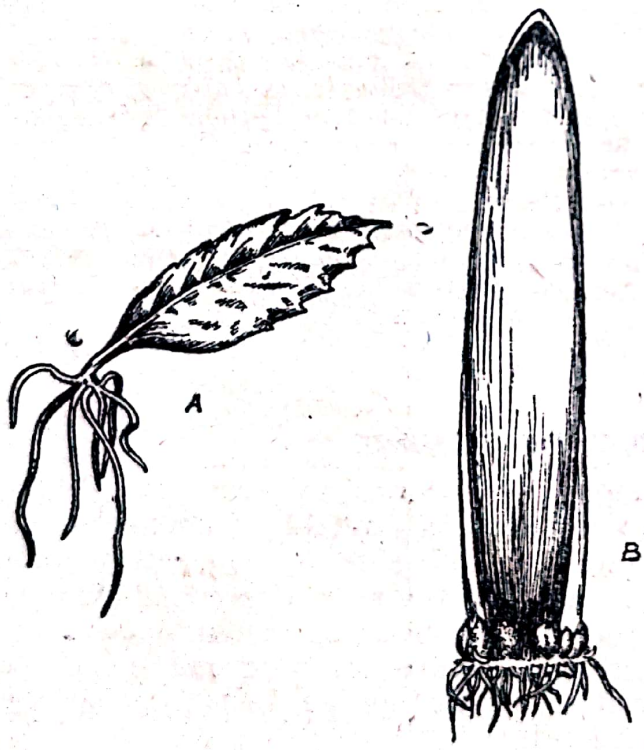


Fig. 180. Regenerarea la frunze :
A — butaş de *Aucuba japonica*; *B* — butaş de frunză de *Hyacinthus orientalis*, în vîrstă de două luni, cu rădăcini şi bulbi la bază (după H. Molisch).

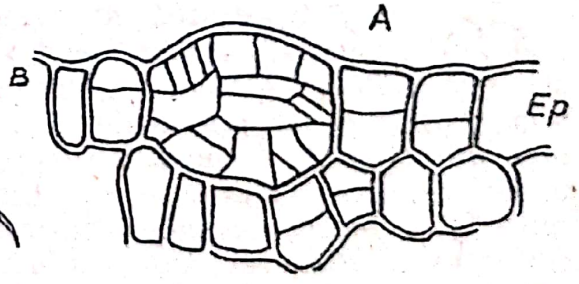


Fig. 181. Secţiune prin frunza de *Begonia* :
Ep — epidermă; *A* — o celulă epidermică din care s-a format prin diviziune un ţesut embrionar (după W. Mevius).

Scanned with OKEN Scanner

Pentru accelerarea nașterii rădăcinilor și a mugurilor din frunze se recomandă ca butașul de pe nisipul umed să fie acoperit cu un pahar de sticlă.

Experiența nr. 249

POLARITATEA

a) *Polaritatea ramurilor de Salix* (H. Vöchting). Organele axiale — sau chiar mici segmente din ele — reacționează specific, la capetele opuse, din punct de vedere morfofiziologic, adică prezintă o polaritate. Aceasta se manifestă și în modul de creștere a mugurilor, și în repartizarea rădăcinilor de butași.

În februarie sau martie se aleg două ramuri de salcie *(Salix viminalis, S. fragilis)* lungi de 20—30 cm, cu diametrul de 10—12 mm, având muguri sănătoși și întregi pe toată lungimea lor. Acești butași se atîrnă vertical în atmosfera saturată cu vapori de apă dintr-o cameră umedă (cilindru de sticlă căptușit cu hîrtie de filtru și având pe fund puțină apă). Ei se prind cu ace și sfoară de partea inferioară a dopului de plută (străbătut de un tub pentru aerisire), așa ca să nu ajungă în apă, iar între dop și capătul lor superior să rămînă o distanță. Unul din butași se așază în poziție normală (cu vîrful natural în sus), iar celălalt invers.

Se păstrează 2—3 săptămîni la cald și în întuneric, controlîndu-se periodic pentru observarea creșterii și îndepărtarea mucegaiurilor. Se constată că, indiferent de poziția butașului, mugurii adormiți din regiunea apicală (pol caulinar) dau ramuri laterale, iar pe partea bazală (pol radical) se formează rădăcini (fig. 182).

Orientarea aceasta nu se datorește influenței gravitației, ci unor condiții interne, căci procesele de restituție nu se inversează în urma așezării inverse: ramura cu vîrful orientat în jos se comportă ca cea din poziție normală, adică tot mugurii din vîrful ei sînt cei care dau lăstari și rădăcinile se nasc tot pe partea mai groasă (baza naturală),

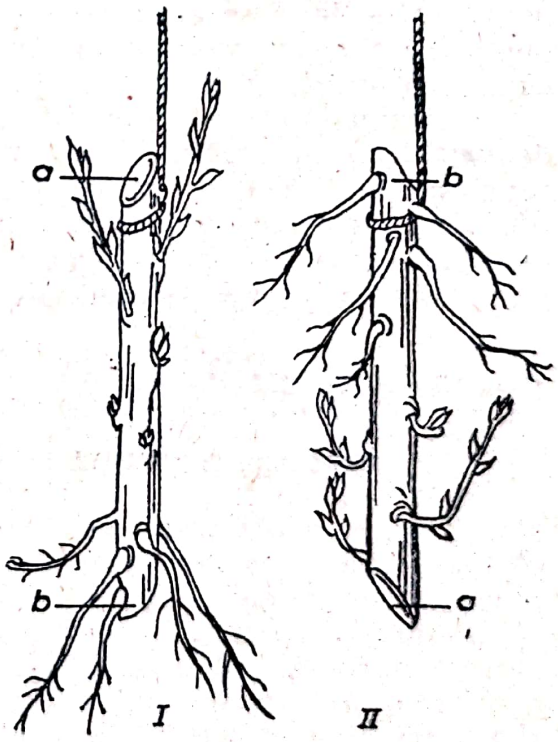


Fig. 182. Butași de salcie crescuți în cameră umedă:
I — în poziție normală; *II* — în poziție inversată: *a* — pol apical; *b* — pol bazal (după W. Rawald).

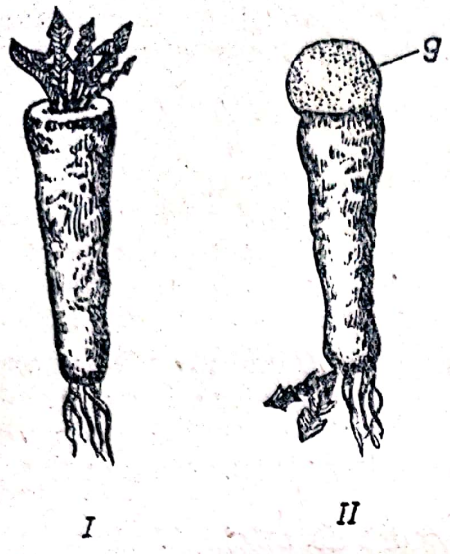


Fig. 183. Polaritatea la rădăcina de *Taraxacum*:
I — segment cu capetele neacoperite;
II — segment cu capătul superior acoperit cu gips *(g)* (după Czaja).

deşi aceasta este îndreptată în sus. Chiar cînd zona pe care se formează rădăcini este mai extinsă, acestea sînt mai numeroase şi mai lungi la polul bazal. Se observă şi orientarea geotropică a noilor organe.

b) *Polaritatea la rădăcina de* **Taraxacum.** 1° *Experienţa după V. A. Tetiurev.* Trei serii de butaşi radiculari de păpădie (v. experienţa nr. 248, *a*), lungi de 2—3 cm, se plantează în lădiţe cu pămînt, în 3 poziţii: I normală, II inversată, III orizontală. Pe butaşi apar lăstari, mai întîi la I şi III, şi abia mai tîrziu la II. Restituţia are loc polar: formarea lăstarilor se limitează la capătul natural superior al fragmentelor de rădăcini, indiferent de poziţia acestora.

2° *Experienţa după Goebel şi Czaja.* Primăvara se scot din pămînt rădăcini de păpădie şi se taie din ele mai multe segmente lungi de 10 cm, retezîndu-li-se cele două capete. Din aceşti butaşi radiculari se formează două serii: la I, suprafeţele de secţiune se lasă neacoperite; la II se acoperă partea superioară cu gips. Toţi butaşii se plantează şi se îngrijesc 3—4 săptămîni, în lădiţe cu nisip umed, stropit cu soluţie nutritivă Knop.

La fragmentele fără gips (I) se observă pe ambele secţiuni formarea de calus, iar la capătul superior apar şi frunze. Dacă după un timp reînnoim secţiunea de pe capătul inferior, aici se vor naşte rădăcini (fig 183). Pe partea de jos a segmentelor la care secţiunea superioară este îmbrăcată în gips (II) apare un calus mult mai puternic decît la I şi din acesta ies atît frunze, cît şi rădăcini.

Experienţa nr. 250

CORELAŢII. EXPERIENŢĂ PENTRU DOVEDIREA DOMINANŢEI APICALE

Se poate provoca dezvoltarea mugurilor laterali prin îndepărtarea celui terminal, care este sursa auxinei în concentraţie inhibantă pentru mugurii laterali.

Pentru experienţa aceasta sînt potrivite plantele ierboase care cresc repede: bob *(Vicia faba)*, fasole *(Phaseolus multiflorus)*, *Coleus* ş.a. Bobul sau fasolea se cresc în ghivece cu pămînt, pînă cînd s-au dezvoltat bine primele două frunze.

La mai multe plante se îndepărtează vîrful (mugurele terminal). Altele (martor) se lasă intacte. Ambele serii se menţin cîteva săptămîni în condiţii bune de creştere. În cîteva zile se observă că mugurii

axilari iau o deosebită dezvoltare la plantele decapitate, căci a încetat acțiunea de inhibare cauzată de concentrația prea mare a auxinei provenită din vîrf. Figura 184 reprezintă o plantulă de fasole la care au crescut mugurii axilari, drept urmare a îndepărtării epicotilului.

Ca să ne convingem că accelerarea creșterii mugurilor laterali se datorește micșorării cantității de auxină prin tăierea vîrfului, întregim experiența urmărind paralel efectul înlocuirii vîrfului amputat cu auxină furnizată dinafară. La o parte din lotul plantelor decapitate se unge, imediat după tăiere, suprafața de secțiune cu pastă de auxină (soluție 1% acid β-indolilacetic, amestecată cu lanolină, v. experiența nr. 244), iar la altele cu pastă fără auxină. Aplicarea pastei se repetă la fiecare ședință de lucrări în cursul experienței. Se constată că la plantele tratate cu auxină mugurii laterali sînt inhibați, ca și cum nu ar fi fost tăiat vîrful.

Fig. 184. Dovedirea dominanței apicale la *Phaseolus multiflorus*. În urma amputării epicotilului au crescut cei doi muguri axilari (după E. Bünning).

Primăvara experiența se poate efectua afară pe teren. Se aleg și se notează cîteva ramuri de pe un copac sau arbust cu muguri terminali adevărați (arțar, frasin, soc, liliac ș.a.). La o parte din acestea se taie jos vîrful. Altele se lasă neatinse și servesc ca martor. După cîteva zile se observă la plantele operate activarea creșterii mugurilor laterali de la subsuoara frunzelor, care erau pînă atunci în repaus. La ramurile care posedă muguri terminali, mugurii laterali rămîn în stare de repaus (dominanța apicală). Pe acest fenomen se bazează practica tăierii arborilor și arbuștilor în horticultură.

7. INFLUENȚA FACTORILOR MEDIULUI AMBIANT ASUPRA CREȘTERII

Creșterea depinde de numeroși factori ai mediului ambiant. Ca toate procesele fiziologice, ea reclamă o *temperatură* convenabilă, optimă, la care se desfășoară cu cea mai mare intensitate, sub și peste care se încetinește și în final se oprește (v. experiența nr. 251). *Lumina* nu este absolut indispensabilă creșterii plantelor, căci ele cresc mai mult la întuneric. Ea acționează însă asupra creșterii atît indirect, favorizînd-o prin intermediul fotosintezei, cît și direct, influențînd forma, dimensiunile, structura și culoarea plantelor (v. experiența nr. 252). *Apa* este esențială; fără prezența ei (umiditatea solului și a atmosferei), plantele nu pot crește (v. experiența nr. 253). Calitatea și cantitatea *substanțelor chimice* din mediul extern, de asemenea, sînt hotărîtoare și își imprimă influența asupra creșterii plantelor (v experiențele nr. 254, 255, 256, 257).

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 251

INFLUENŢA TEMPERATURII ASUPRA CREŞTERII

a) *Experienţa cu plantule de ovăz sau de grîu.* Cîte 10 boabe îmbibate de ovăz *(Avena sativa)* sau de grîu (*Triticum* sp.) se pun la germinat pe hîrtie umedă de filtru în 3 cutii Petri. După germinare se măsoară lungimea coleoptilului şi a rădăcinii primare la fiecare plantulă. Cele 3 serii se pun apoi în condiţii diferite de temperatură, dar în condiţii identice de lumină, mai precis la întuneric: I la temperatura de 5°C (în frigider); II la temperatura camerei, 20—25°C, acoperite cu cutii negre de carton; III la 30—35°C (în termostat). După cîteva zile se măsoară din nou lungimile celor două organe şi se calculează lungimile medii pentru fiecare variantă. Datele se trec într-un tabel (tabelul 35).

Tabelul 35

Influenţa temperaturii asupra creşterii

Plantule de . . . . . Durata . . . . . .

Seria	Temperatura °C	Lungimea medie a rădăcinii mm		Viteza creşterii mm/h	Lungimea medie a coleoptilului		Viteza creşterii mm/h
		iniţial	final		iniţial	final	
I	5	...	...	...	...	...	...
II	20—25	...	...	...	...	...	...
III	30—35	...	...	...	...	...	...

Pentru creştere există o temperatură minimă, una optimă şi alta maximă. Se constată că viteza creşterii este foarte scăzută la frig (I) şi la căldură ridicată (III) şi este cea mai mare la 20—25°C (II).

Dacă se seamănă ovăzul sau grîul în ghivece cu pămînt, măsurătorile se vor face la una şi la două săptămîni, numai pe coleoptile.

b) *Experienţa cu hipocotile.* Se cresc în 3 ghivece cîte 10 plantule de floarea-soarelui *(Helianthus annuus).* Fiecare plantulă se marchează cu două semne cu tuş (v. experienţa nr. 230), la vîrful şi la baza hipocotilului, şi se măsoară distanţa dintre ele. Ghiveciul I se ţine la temperatura de 5°C, II la 20—25°C şi III la 40—45°C (în termostate). După 3 zile se repetă măsurarea distanţelor dintre semne şi se calculează valoarea medie a sporului de creştere pentru fiecare variantă.

Experienţa nr. 252

INFLUENŢA LUMINII ASUPRA CREŞTERII. FENOMENUL ETIOLĂRII

Comparînd aspectul şi dimensiunile plantelor crescute în întuneric (plante etiolate) cu al celor de control, crescute în condiţii normale, aflăm că lumina are o acţiune remarcabilă de schimbare a

formei vegetalelor. Plantele etiolate se abat de la normal prin modificări morfologice, anatomice și de culoare.

a) *Etiolarea la mono- și dicotiledonate.* Experiența reușește bine în lunile iunie și iulie. Se seamănă în perechi de ghivece cu pămînt cîte 5—6 semințe de același fel: *a)* de dicotiledonate *(Phaseolus vulgaris, Pisum sativum, Tropaeolum majus, Cucurbita pepo, Helianthus annuus, Sinapis* etc.); *b)* de monocotiledonate *(Triticum* sp., *Zea mays).* Din fiecare pereche un ghiveci se expune la lumină, celălalt se așază alături, însă acoperit cu ecran întunecat, ca plantele să crească în absența luminii.

În 2—3 săptămîni se constată mari deosebiri între cele două serii de plante, normale și etiolate. Primul lucru izbitor constă în lipsa clorofilei la exemplarele etiolate, care în loc să fie verzi sînt palide, albe sau galbene. Se măsoară și se notează într-un tabel lungimea tulpinii și lățimea și lungimea frunzelor la plantele crescute la lumină și cele crescute în întuneric. Se vede că dicotiledonatele și monocotiledonatele nu reacționează la fel față de lipsa luminii. La primele tulpinile etiolate sînt mai alungite și mai subțiri decît cele de la lumină, care sînt scurte și groase. Deci lumina împiedică creșterea în lungime a tulpinii. La *Phaseolus*, epicotilul este cel care se alungește foarte mult în întuneric, pe cînd la *Cucurbita*, hipocotilul. Frunzele reacționează însă altfel decît tulpinile la excitația luminii: la plantele etiolate ele sînt mai mici, deci lumina stimulează creșterea în suprafață a limbului (fig. 185, 186); în plus, frunzele etiolate au formă de scoică, datorită creșterii mai accentuate a feței inferioare (creștere hiponastică); la lumină, dimpotrivă, are loc o creștere epinastică. Măsurînd unghiul superior pe care-l face pețiolul frunzei cu tulpina, se constată că este mult mai mic decît cel normal.

În cazul monocotiledonatelor, tulpinile celor două serii de plante nu se deosebesc prea mult, internodurile tulpinii etiolate atingînd lungimea normală. În schimb frunzele etiolate cresc mult mai mult în lungime, dar sînt ceva mai înguste decît cele normale.

Se examinează la microscop și se determină, cu micrometrul, dimensiunile celulelor pe secțiuni transversale și longitudinale, făcute prin cele două feluri de plante, pentru a vedea deosebirile anatomice: celule scurte și cu pereți groși la plantele de la lumină; celule foarte lungi și cu membrane subțiri la cele etiolate. Diferențierea celulară regresează, creșterea în grosime și lignificarea pereților este mai redusă, în schimb conținutul în apă este mai mare la întuneric.

b) *Efectul culorii luminii în etiolare.* Se poate afla care parte a spectrului are acțiune asupra creșterii plantelor astfel: Peste plantele de călțunași *(Tropaeolum majus),* crescute în ghivece cu pămînt, se așază cîte un cilindru înalt de carton, deschis la ambele capete. Deasupra deschiderii lui superioare — unicul loc pe unde poate să ajungă lumina la plantă — se așază o cutie Petri, care conține o soluție roșie (de bicromat de potasiu). La o plantă similară se pune o cutie Petri cu soluție albastră (azotat de cupru). Se va vedea că plantele care primesc

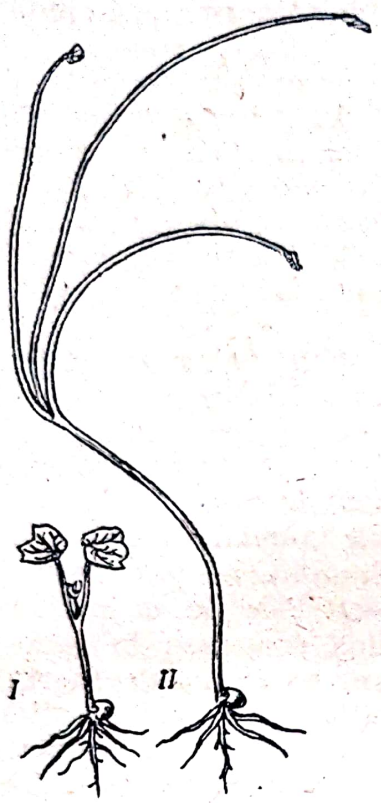


Fig. 185. Etiolarea la *Tropaeolum majus*:
I — crescut la lumină;
II — crescut în întuneric (după P. W. Troll).

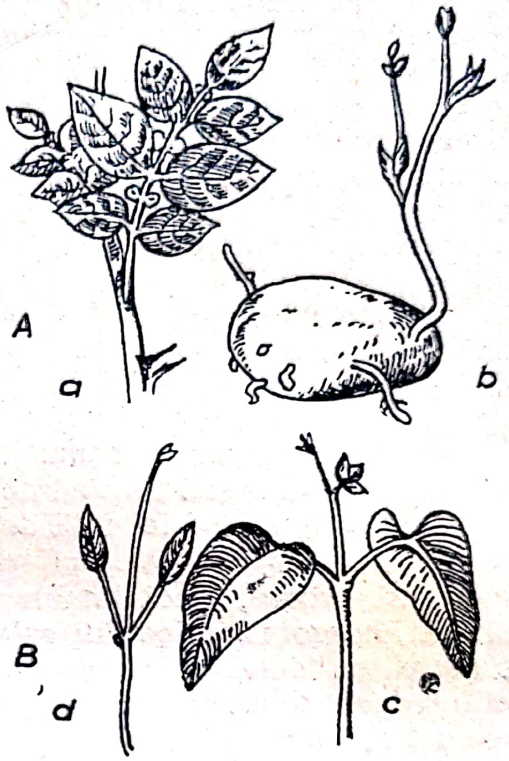


Fig. 186. Etiolarea:
A — la cartof: *a* — frunză normală; *b* — tubercul încolțit la întuneric; *B* — la fasole: *c* — frunza normală; *d* — frunză etiolată (după Brauner L., Bukatsch. F.

lumina albastră cresc normal, pe cînd cele de sub ecranul roșu etiolează. Deci lumina roșie acționează ca și întunericul.

c) *Etiolarea la cartof.* Un material potrivit pentru studiul etiolării îl constituie tuberculii de cartof. Se cultivă cartofi, care tocmai au început să încolțească, în nisip umed, unii la lumină, alții la întuneric. Diferența dintre tulpinile normale, cu frunze mari și verzi, și tulpinile etiolate, lungi și palide, cu frunze extrem de reduse, este foarte evidentă (fig. 186).

d) *Deosebiri anatomice între frunzele de lumină și de umbră.* Se examinează la microscop secțiuni transversale prin frunzele de soare (de pe latura sudică a coroanei) și prin cele de umbră (din interiorul coroanei), colectate de pe același arbore de fag *(Fagus silvatica)*. Se stabilesc deosebirile de structură dintre ele, remarcîndu-se mai ales dezvoltarea mult mai mare a parenchimului palisadic la primele.

e) *Variația vitezei de creștere cu oscilația diurnă a intensității luminii.* Dacă înregistrăm cu ajutorul auxanometrului înscriitor (v. experiența nr. 239) creșterea unei plante de fasole, în timpul zilei și al nopții, aflăm din analiza curbei obținute că viteza creșterii tulpinii este

în raport invers cu intensitatea luminii. Deci creșterea în lungime a tulpinilor manifestă o periodicitate diurnă, dictată de variația intensității luminii.

Experiența nr. 253

INFLUENȚA APEI ASUPRA CREȘTERII

a) Se poate demonstra că gradul de *umiditate al solului* este decisiv în creșterea plantelor, astfel: În 4 ghivece cu pămînt se seamănă grîu. După ce au ieșit coleoptilele, facem să varieze cantitatea de apă din solul celor 4 loturi de plante. La I nu se mai adaugă de loc apă; celelalte serii se stropesc zilnic; II cu cîte 10 ml; III cu 30 ml și IV cu 50 ml de apă. Urmărind 10 zile comportamentul plantelor, se vede că creșterea lor depinde de cantitatea apei disponibile din sol și că în lipsa acesteia plantele nu cresc.

b) *Umiditatea atmosferică* influențează de asemenea creșterea. Faptul se poate constata observînd creșterea grîului din 2 ghivece alăturate, dintre care unul este acoperit cu un clopot de sticlă, ceea ce îi asigură o umiditate atmosferică mare, iar celălalt este neacoperit. Stropirea pămîntului se face cu cantități egale de apă. Se află că umiditatea mare a atmosferei favorizează creșterea.

c) *Paralelismul între viteza creșterii și aprovizionarea plantelor cu apă* poate fi stabilit cu ajutorul *auxanometrelor*. Se cresc în două ghivece cu pămînt bun plantule de floarea-soarelui *(Helianthus annuus)*. Cînd au atins înălțimea de 5 cm se smulg o parte din plantule, lăsîndu-se una singură în fiecare ghiveci. După ce tulpina acestora ajunge la înălțimea de 10 cm, se suprimă stropirea solului cu apă, pînă cînd plantele prezintă primele semne de ofilire. Atunci ambele ghivece se așază pe o masă într-un loc umbrit și se leagă vîrful tulpinilor celor două plante de pîrghia cîte unui auxanometru înregistrator (v. experiența nr. 239, *b*). Acum se stropește bine cu apă pămîntul dintr-un ghiveci, pe cînd cel din al doilea se lasă uscat. Comparînd curbele creșterii înscrise pe cilindrele înregistratoare, se constată accelerarea creșterii prin mărirea aprovizionării cu apă.

Experiența nr. 254.

INFLUENȚA CONCENTRAȚIEI SOLUȚIEI DIN SOL ASUPRA CREȘTERII

Majoritatea plantelor nu pot obține apa dintr-un sol care conține o concentrație mare de substanțe dizolvate. Concentrațiile înalte, frînînd absorbția apei, împiedică creșterea.

Pentru a ne convinge de aceasta observăm, timp de o săptămînă, comportamentul a 6 plante egale, cu rădăcinile scufundate în soluții de concentrații diferite.

Scanned with OKEN Scanner

Se etichetează 6 flacoane Erlenmeyer, cu capacitatea de 200 ml, de la 1 la 6. Plecînd apoi de la o soluție inițială de 0,3 *M* (= 33‰) $CaCl_2$, obținem seria de concentrații descrescînde, diluînd cu cantități potrivite de apă distilată. În fiecare flacon se pun cîte 200 ml de soluție $CaCl_2$ astfel:

1 — 0,3 *M*
2 — 0,2 *M* (= 40 ml soluție inițială + 160 ml H_2O distilată)
3 — 0,1 *M* (= 20 ml soluție inițială + 180 ml H_2O distilată)
4 — 0,05 *M* (= 10 ml soluție inițială + 190 ml H_2O distilată)
5 — 0,025 M (= 5 ml soluție inițială + 195 ml H_2O distilată)
6 — H_2O distilată.

Se aleg 6 plantule viguroase de floarea-soarelui *(Helianthus annuus)*, pe care au început să se dezvolte primele frunze adevărate. Se spală bine rădăcinile de pămînt (mai bine este să se folosească plante crescute în soluție nutritivă). În fiecare flacon fixăm cîte o plantă, cu rădăcina complet scufundată în soluție, iar porțiunea de tulpină care trece prin gura flaconului o înconjurăm cu vată. Punem flacoanele într-un loc unde primesc lumină moderată, difuză.

Se țin plantele sub observație, notînd starea lor după mai multe ore, după 24 de ore și apoi din timp în timp în cursul săptămînii care urmează. Dacă este necesar, completăm soluțiile la 2—3 zile pentru a menține nivelul inițial. Se va înregistra ofilirea și încetarea creșterii plantelor pe rînd, începînd cu cele din soluția cea mai concentrată.

Experiența nr. 255

INFLUENȚA APLICĂRII ÎNGRĂȘĂMINTELOR ASUPRA CREȘTERII (V. A. TETIUREV)

Cînd lipsesc din sol sărurile necesare plantelor, li se adaugă îngrășăminte. Ne putem convinge de influența îngrășămintelor asupra creșterii plantelor astfel:

Punem în două ghivece un amestec de pămînt și nisip în părți egale și îl umezim. Semănăm în fiecare un lot de boabe de grîu (*Triticum* sp.), la adîncime de 3 cm. Ținem la căldură și lumină.

Cînd apar coleoptilele se începe tratamentul: I se stropește cu soluție nutritivă preparată dizolvînd într-un litru de apă de conductă: azotat de calciu (1 g), fosfat acid de potasiu (0,25 g), sulfat de magneziu (0,25 g), clorură de potasiu (0,125 g). Rezerva de soluție se păstrează la întuneric. Lotul II se stropește cu apă.

Scanned with OKEN Scanner

După 2—3 săptămîni se măsoară dimensiunea plantelor din ambele loturi. Cele cărora li s-au administrat îngrășăminte sînt mai mari decît cele stropite numai cu apă, deci aplicarea de îngrășăminte favorizează creșterea.

Experiența nr. 256

EFECTUL APROVIZIONĂRII CU CANTITĂȚI DIFERITE DE AZOT ASUPRA CREȘTERII (K. PAECH – W. SIMONIS)

Se cultivă plante de muștar *(Sinapis)* sau floarea-soarelui *(Helianthus annuus)* pe nisip cu săruri nutritive, în 3 loturi cu cantități crescînde de NH_4NO_3, și se urmărește creșterea plantelor.

Folosim nisip care a fost spălat și uscat. În 3 ghivece punem cîte 1 kg de nisip, după ce i-am adăugat:

a) *Îngrășămîntul de bază*, același pentru toate trei loturile, constînd din următoarele săruri, socotite în grame la 1 000 g de nisip:

$Ca_3(PO_4)_2$	0,23 g
$Fe_2(SO_4)_3$	0,20 g
$MgSO_4$	0,25 g
KCl	0,37 g
$CaSO_4$	0,25 g

b) *Îngrășămîntul adițional de azot*, în cantități diferite pentru diversele loturi, și anume (grame de NH_4NO_3 la 1 000 g de nisip):

lot I (cultură deficientă de N)	0,02 g
lot II (cultură normală)	0,2 g
lot III (cultură 2-normală)	0,4 g

Cînd se umezește prima dată nisipul, se amestecă cu apa microelementele bor și mangan, astfel: fiecare kilogram de nisip va primi, la prima umectare, cîte 1,5 ml de soluție de 0,01% acid boric și 3 ml de soluție 0,01% clorură de mangan.

Semințele se germinează în pămînt de grădină, apoi se scot și se plantează în cele 3 ghivece, în care se cresc 1—2 luni (după transplantare se înlocuiesc plantulele moarte).

Curînd se observă deosebiri în creșterea celor trei loturi de plante. În lipsa azotului, plantele prezintă încetinirea creșterii, mărirea greutății rădăcinii în comparație cu greutatea tulpinii, micșorarea numărului de frunze și al ramificărilor, micșorarea suprafeței frunzelor ș.a.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 257

INFLUENȚA ETILENULUI ASUPRA CREȘTERII (H. MOLISCH)

În două ghivece mici cu pămînt se cultivă plante de leguminoase: mazăre *(Pisum sativum)*, bob *(Vicia faba)* sau lupin *(Lupinus albus)*. După germinare se așază un ghiveci cu plantule (I) pe o placă de sticlă, alături de un măr copt, și se acoperă cu un clopot de sticlă (ale cărui margini se ung cu vaselină pentru ca să închidă ermetic). Plantulele vor crește în prezența etilenului emanat din fructul de măr. Al doilea ghiveci, cu plante-martor (II), se pune în aceleași condiții, însă fără măr, deci aici plantele cresc în aer curat. În 1—2 săptămîni se vede că la plantele din I, cultivate în atmosfera cu etilen, creșterea este anormală: procesul este puternic inhibat, plantele au internoduri mai puține și nu reacționează normal la excitația geică.

8. STAREA DE REPAUS

Starea de repaus a plantelor, de la sfîrșitul perioadei de vegetație, se caracterizează prin încetarea totală a creșterii și prin procese care duc la rezistența plantelor la ger; ea poate fi scurtată sau prelungită pe cale artificială, prin diverse mijloace (stimulare pe cale fizică sau chimică).

Experiența nr. 258

STIMULAREA GERMINAȚIEI TUBERCULILOR DE CARTOF

Se experimentează cu tuberculi de cartof *(Solanum tuberosum)* care se găsesc în plină perioadă de repaus (din luna august pînă la sfîrșitul lui ianuarie). Tuberculii se împart în două loturi de cîte două bucăți (sau de 1 kg) și fiecare lot se închide în cîte un recipient ermetic (cutie de tablă) sau se așază pe plăci de sticlă și se acoperă cu clopote de sticlă cu marginea unsă cu vaselină. Se țin 48 de ore în întuneric, la 25°C, în care timp: lotul I se supune acțiunii substanțelor stimulatoare, iar II nu se tratează și va servi ca martor.

Substanța stimulatoare cu care se experimentează este etilenclorhidrina (sau clorura de etilen ori un amestec format din 7 părți etilenchorhidrină + 3 părți clorură de etilen + 1 parte tetraclorură de carbon). Aceasta se administrează în proporție de 0,1—1 ml la 1 kg de tuberculi și se pune într-un cristalizor, sub clopotul de sticlă, alături de cartofi, sau se îmbibă în ea fîșii de hîrtie de filtru, care se așază printre tuberculi. După 48 de ore, ambele loturi se pun să germineze, la 25—28°C, într-o cameră obscură umedă sau într-o pivniță, unde se păstrează 2 luni. Se controlează tot la două săptămîni și se notează

Scanned with OKEN Scanner

numărul mugurilor dezvoltați în fiecare lot. Datele se consemnează în tabelul 36.

Tabelul 36

Stimularea germinației tuberculilor de cartof

Lot	Nr. de muguri dezvoltați					
	durata, în săptămîni după tratament					
	2	4	6	8	10	12
I tratament cu etilenclorhidrină	...	...	...	...	...	...
II netratat martor	...	...	...	...	...	...

Se constată că tuberculii supuși efectului vaporilor de etilenclorhidrină încolțesc, deci își întrerup starea de repaus, pe cînd cei din lotul-martor nu germinează.

Întreruperea pe cale artificială a stării de repaus a mugurilor tuberculilor de cartof reușește și cu alte chimicale, ca: tiocianat de potasiu, isopropil-fenil-carbamat, tiouree ș.a. În cazul tioureei, tratamentul se face ținînd tuberculii 1 oră în soluție apoasă 2%, după care se lasă să se usuce la aer. Suprimarea repaosului tuberculilor de cartof permite sădirea lor curînd după recoltare. Prelungirea stării de odihnă, adică inhibarea germinării cartofilor din depozite, se realizează prin stropirea lor, cînd se așază toamna spre păstrare, cu substanțe inhibitoare (în proporție de 100—200 g la kg), ca: fenil uretan sau soluție apoasă 1% de esterul metilic al acidului α-naftilenacetic (se dizolvă 10 g în cîțiva mililitri de alcool etilic absolut și se diluează cu apă pînă la 1 l), tetraclornitrobenzol ș.a.

Experiența nr. 259

ÎNTRERUPEREA REPAUSULUI MUGURILOR DE PE RAMURILE LEMNOASE

a) *Necesitatea acțiunii frigului pentru întreruperea perioadei de repaus a mugurilor.* Mugurii de pe ramurile de cireș *(Cerasus avium)* tăiate în octombrie, puse în apă și ținute într-o încăpere caldă și luminoasă, nu se desfac, ci pier. Ramurile care au fost tăiate mai tîrziu, pe la mijlocul lui decembrie, și apoi au fost păstrate în aceleași condiții, înmuguresc în curs de o lună. Deci pentru ieșirea din repaus este nevoie ca ramurile să fi fost supuse acțiunii frigului.

b) *Întreruperea stării de repaus prin metoda băii calde (H. Molisch).* Se taie ramuri de liliac *(Syringa vulgaris)*, alun *(Corylus avellana)* sau de *Forsythia*, toamna tîrziu, în luna noiembrie, cînd se află în perioadă de odihnă. Se scufundă complet sau parțial în apă caldă de 30—35°C, timp de 12 ore. Pentru menținerea temperaturii peste noapte, vasul se înfășoară și se acoperă cu pături, ori ne folosim de vase termos sau de termostat. Ramuri identice, lăsate la temperatura camerei, vor servi de control.

Scanned with OKEN Scanner

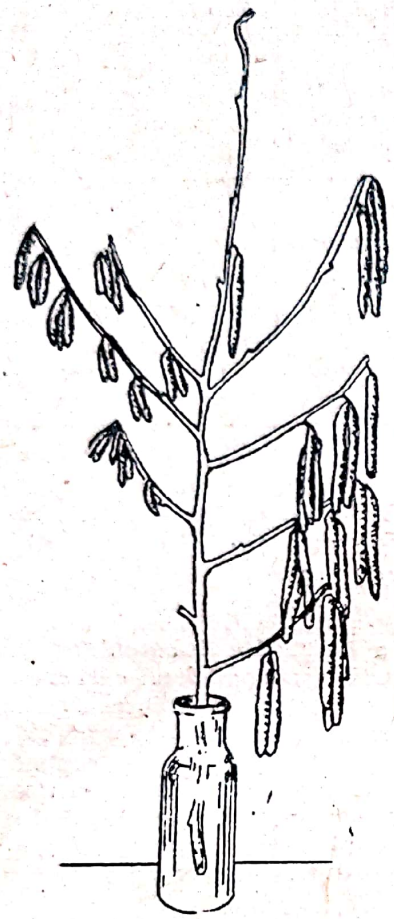


Fig. 187. Întreruperea perioadei de reapus la *Corylus avellana*, prin metoda băii calde. Tratamentul s-a aplicat jumătății din dreapta (după H. Molisch).

După tratamentul băii calde, ramurile se scot și se păstrează mai departe două săptămîni, alături de martor, cu baza scufundată în vase Erlenmeyer cu apă. Ramurile supuse acțiunii băii calde înmuguresc după o săptămînă, pe cînd cele de control se mențin în stare de repaus. Baia are efect local; scufundînd numai jumătate din ramurile de alun în apa caldă, se dezvoltă numai amenții de pe partea tratată (fig. 187).

BIBLIOGRAFIE

1. Anghel, Gh. și colab., *Determinarea calității semințelor*, București, Ed. Acad. R.P.R., 1959.
2. Brauner, L., *Das kleine Pflanzenphysiologische Praktikum*, Teil I, II, Jena, G. Fischer, 1929.
3. Brauner, L., Bukatsch, F., *Das kleine Pflanzenphysiologische Praktikum*, 6 Aufl. Jena, G. Fischer. 1961.
4. Bünning, E., *Entwickungs -und Bewegungsphysiologie der Pflanze*, Ed. III, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer, 1953.
5. Crișan, C., *Histologie*, vol. I, București, Editura medicală, 1957.
6. Curtis, O. F., Clark, D. G., *An Introduction to Plant Physiology*, New-York, Mc Graw-Hill, 1950.
7. Darwin, F., Acton, H., *Practical Physiology of Plants*, Cambridge, University Press, 1925.
8. Detmer, W., *Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum*, Jena, G. Fischer, Ed IV, 1912.
9. Guilliermond, A., Mangenot, G., *Précis de Biologie végétale*, Ed. II, Paris, Masson, 1946.
10. Jörgensen, A., Hansen, A., Lund, A., *Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie*, 6 Aufl., Jena, G. Fischer, 1940.
11. Kolkwitz, R., *Pflanzenphysiologie. Versuche u. Beobachtungen an höheren u. niederen Pflanzen*, ed. III, Jena, G. Fischer, 1935.
12. Lundegardh, H., *Pflanzenphysiologie*, Jena, G. Fischer, 1960.
13. Machlis, L., Torrey, J. G., *Plants in action. A. Laboratory Manual of Plant Physiology*, San Francisco, W. H. Freeman a. Comp., 1959.
14. Maximov, N. A., *Fiziologia plantelor*, București, Ed. de stat, 1951.
15. Meyer, S. B., Andersen, D. B., Swanson, C. A., *Laboratory Plant Physiology*, III-a ed., New-Jersey—Toronto—London, D. van Nostrand Comp. Princetown, 1955.
16. Mevius, W., *Taschenbuch der Botanik*, Stuttgart, G. Thieme, 1961.
17. *Microbiologie tehnică generală*, Ministerul Industriei Alimentare, București, Ed. de stat pentru lit. șt. și did., 1951.
18. Moisescu, N., *Fiziologia vegetală experimentală*, București, Editura „Minerva", 1907.
19. Molisch, H., *Botanische Versuche ohne Apparate*, Jena, G. Fischer, 1931.

Scanned with OKEN Scanner

20. Paech, K., Simonis, W., *Übungen zur Stoffwechselphysiologie der Pflanzen, Pflanzenphysiologische Praktika*, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer, 1952.
21. Pop, E., Sălăgeanu, N., Péterfi, Șt., Chirilei, H., *Manual de fiziologia plantelor*, vol. II, București, Ed. de stat didactică și pedagogică, 1960.
22. Pringsheim, E., *Pflanzenphysiologische Übungen für Studierende u. Lehrer*, Leipzig, 1931.
23. Rawald, W., *Pflanze Umwelt u. Natur*, Leipzig—Jena, Urania, 1959.
24. Ruge, U., *Übungen zur Wachstums u. Entwicklungsphysiologie der Pflanze. Pflanzenphysiologische Praktika*, Band IV, ed. 3, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer, 1951.
25. Skazkin, F. D., Locinovskaia, E. I., Krasnolselskaia, T. A., ș. a., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, Sovetskaia Nauka, 1953.
26. Small, J., *A textbook of Botany*, ed. III, London, Churchill, 1933.
27. Stocker, O., *Pflanzenphysiologische Übungen*, Jena, 1942.
28. Stocker, O., *Grundriss der Botanik*, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer, 1952.
29. Tetiurev, V. A., *Metodica experiențelor la fiziologia plantelor*, București, Ed. de stat didactică și pedagogică, 1953.
30. Thomas, Meirion, *Plant Physiology*, ed. 4, London, J. A. Churchill Ltd., 1958.
31. Troll, W., *Allgemeine Botanik*, Stuttgart, E. E. Verlag, 1959.
32. Woskresenski, P. I., *Tehnica generală a lucrărilor de laborator*, București, I.D.T., 1949.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL IX

DEZVOLTAREA PLANTELOR

de conf. univ. dr. EMILIA ILIESCU

Dezvoltarea plantelor are loc în stadii (transformări calitative) ce se petrec în corpul plantelor, în celulele meristematice ale vîrfurilor vegetative. Datorită acestor schimbări calitative, planta se dezvoltă, producînd flori și semințe.

Se cunosc mai bine 2 stadii de dezvoltare: I *stadiul de iarovizare* și II *stadiul de lumină*, care sînt succesive și ireversibile.

Ambele stadii cer mediului un complex de factori *(temperatură, aer, umiditate, hrană)*, într-un anumit raport cantitativ. Diferitele specii de plante se deosebesc după cerințele lor specifice față de factorii amintiți, în funcție de mediul lor natural de dezvoltare; de exemplu, grîul de toamnă, plantă de regiuni temperate, necesită pentru stadiul de iarovizare o temperatură de 0—5°C, iar bumbacul, plantă de regiuni calde, o temperatură de 20—25°C.

Experiența nr. 260

STADIUL DE IAROVIZARE. IAROVIZAREA GRÎULUI DE TOAMNĂ

Iarovizarea începe din momentul în care embrionul se trezește la viață, deci din momentul umectării lui.

Modul de lucru. Se iau 50—100 g de cariopse de grîu de toamnă (cam la fel de mari) și se îmbibă cu apă. Cantitatea de apă necesară începutului încolțirii este de 50% din greutatea uscată a semințelor. Pentru aceasta se stabilește, înainte de iarovizare, procentul de apă din cariopse. În cazul în care cariopsele de grîu conțin aproximativ 12—13% apă, ele se umectează numai cu 38% apă, dată în 3 reprize pentru ca absorbția să aibă loc treptat.

După umectarea lor cu cantitatea de apă stabilită se pun într-o pungulița de tifon la temperatura de 12°C, timp de 36 de ore, sau numai de 24 de ore, dacă temperatura este mai ridicată.

Durata ținerii cariopselor la încolțire depinde de felul semințelor, de aviditatea lor pentru apă, de energia lor germinativă, de temperatura camerei; de exemplu, soiurile de grîu de toamnă, care încolțesc foarte repede, trebuie ținute un timp mai scurt. În general, momentul începerii iarovizării cariopselor se socotește atunci cînd 3—5% dintre ele prezintă o umflătură în formă de cioc la partea inferioară, unde se află colțul.

După încolțire se trec cariopsele la rece într-un frigider cu temperatura de +3—+5°C sau în alt loc rece, de exemplu afară într-o

groapă săpată în pămînt sub zăpadă, după ce în prealabil au fost așezate într-un ghiveci. Acoperim ghiveciul parțial cu o bucată de geam sau de carton, pentru ca semințele să aibă oxigenul necesar, iar groapa o acoperim cu un morman de zăpadă, astfel încît să se poată umbla la ghivece din cînd în cînd. În cazul în care cariopsele au tendința de a se usca, se stropesc cu o cantitate mică de apă.

Durata iarovizării în condițiile climei țării noastre este de 45—50 zile, în funcție de soiul de cereale cu care se lucrează. Grîul de primăvară se iarovizează la temperatura de +2—+5°C (timp de 7 zile), deoarece la temperatură mai ridicată plantele cresc prea mult și nu se pot semăna.

După ce cariopsele s-au iarovizat, se seamănă într-o parcelă afară pe teren (îndată ce timpul este favorabil și pămîntul zvîntat), iar pe o altă parcelă, alăturată, se seamănă grîu neiarovizat din același soi. Se pot face măsurători în decursul perioadei de vegetație (din 10 în 10 zile), în legătură cu înălțimea plantelor, suprafața foliară etc. Se constată că grîul iarovizat răsare înaintea celui neiarovizat, mai uniform, are frunze mai mari și înspică, spre deosebire de cel neiarovizat, care rămîne sub formă de tufe bogat înfrățite.

Se recomandă ca în regiunile noastre începerea iarovizării să se facă în ianuarie—februarie.

Experiența nr. 261.

STADIUL DE LUMINĂ

a) *Durata stadiului de lumină la plantele de zi lungă.* Stadiul de lumină începe o dată cu apariția primelor frunze.

Modul de lucru. Se iau 9 ghivece cu cîte 4—5 kg de pămînt de grădină. În fiecare dintre ele se seamănă cîte 35 cariopse de grîu de primăvară, la adîncime mică, de aproximativ 1 cm (se poate lucra și cu ovăz, salată, spanac).

După răsărirea plantulelor, se răresc, lăsîndu-se numai cîte 15 în fiecare ghiveci.

Chiar de la apariția plantulelor, ghivecele cu plante sînt împărțite în 3 loturi.

Un lot (3 ghivece), lotul martor, este lăsat afară în permanență. El primește zilnic 16 ore (adică de dimineață pînă seara) lumina totală a zilelor de vară.

Al doilea lot (3 ghivece) primește zilnic numai 12 ore de lumină totală și 12 ore de întuneric într-o cameră obscură.

Al treilea lot (3 ghivece) primește zilnic numai 9 ore de lumină totală și 15 ore de întuneric într-o cameră obscură, acoperită cu rogojini și tapetată cu hîrtie neagră, tot timpul celor 60 de zile cît durează experiența.

Scanned with OKEN Scanner

În tot acest interval de timp se menține umiditatea solului la 60% din capacitatea maximă pentru apă, prin adăugarea zilnică de apă (v. experiențele 55 și 76).

Plantele de control (martor) stau zi și noapte afară, spre deosebire de plantele cu regim de lumină controlat, care stau o parte din timp în cameră obscură.

După 60 de zile, plantele ținute zilnic 9—12 ore în lumina zilei nu înspică, ci rămîn sub formă de tufe bine înfrățite, dar cu paiul scurt, spre deosebire de plantele-martor, ținute toată ziua de vară în lumină (16 ore), care au format spice și fructe (fig. 188).

Fig. 188. Aspectul plantelor de grîu de primăvară Lutescens 62:
1 — crescute la lumină naturală 9 ore zilnic; *2* — crescute la lumină naturală 12 ore zilnic; *3* — crescute la lumină naturală 16 ore zilnic.

Deci plantele de zi lungă au nevoie să fie expuse zilnic peste 12 ore la lumină totală pentru ca să poată lega rod.

În decursul experienței se pot face diferite observații: măsurarea înălțimii plantelor, a suprafeței limbului, iar după terminarea experienței se poate determina și greutatea plantelor din fiecare lot, greutatea boabelor etc.

b) *Durata stadiului de lumină la plantele de zi scurtă.* Plante tipice pentru aceste experiențe sînt soia și meiul. Plantele de zi scurtă sînt plante care înfloresc în zi scurtă, de maximum 12 ore și de minimum 9—10 ore.

Se iau 9 ghivece, cu 4—5 kg de pămînt de grădină, în care se seamănă cîte 20 de semințe în fiecare.

Ghivecele se împart în 3 loturi:

Primul lot (3 ghivece) se ține zilnic toată perioada de vegetație timp de 9 ore la lumină totală.

Al doilea lot (3 ghivece) se ține zilnic toată perioada de vegetație cîte 12 ore la lumină.

Al treilea lot (3 ghivece) se ține în tot cursul perioadei de vegetație timp de 16 ore la lumină în fiecare zi.

După ce stau la lumină numărul de ore stabilit, plantele se trec la întuneric. Pentru aceasta putem confecționa din carton niște cornete conice care să acopere bine ghivecele, în orele în care se cere să fie întunecate. Putem folosi și cutii mai mari, formate dintr-un cadru de lemn și rogojini. Atît cornetele cît și cutiile trebuie tapetate cu hîrtie

neagră în interior. După cîteva zile de la răsărirea plantelor se lasă în ghivece numai 5 plantule, cele mai bine dezvoltate și egale ca mărime.

Experiența începe în general în aprilie—mai și se termină în iulie—august. Ea dovedește că în primul rînd rodesc plantele care stau tot timpul cîte 9—12 ore zilnic la lumina totală și nu înfloresc de loc cele care stau 16 ore zilnic la lumina totală.

Se pot face observații din 10 în 10 zile asupra înălțimii plantelor, asupra numărului frunzelor etc.

Experiența nr. 262

STABILIREA REACȚIEI LA LUMINĂ LA GRÎUL LUTESCENS 62

Se iau 18 ghivece, cu 4—5 kg de pămînt de grădină fiecare, în care se seamănă cîte 25 de cariopse. După răsărire se lasă în fiecare ghiveci numai 15 plantule, cu creșterea mai uniformă. De la apariția primelor frunze, plantele sînt supuse unui regim neegal de lumină, ghivecele însă se mențin la o umiditate de 60% din capacitatea maximă pentru apă (v. experiențele nr. 55 și 76).

Variantele experienței sînt următoarele:

Varianta 1 (3 ghivece): plantele sînt ținute de dimineața pînă seara la lumină de 16 ore, cît este lungimea zilei de vară.

Varianta 2 (3 ghivece): plantele sînt ținute numai 5 zile la lumina zilei de 16 ore, iar restul zilelor în lumină de 10 ore. Practic, se scot dimineața la 7 la lumină și se duc la întuneric la orele 16—17.

Varianta 3 (3 ghivece): plantele sînt ținute 10 zile la lumină de 16 ore și apoi restul zilelor la lumină de 10 ore zilnic.

Varianta 4 (3 ghivece): plantele sînt ținute 20 zile la lumină de 16 ore și apoi restul zilelor la lumină de 10 ore zilnic.

Varianta 5 (3 ghivece): plantele sînt ținute 30 zile la lumină de 16 ore și apoi restul zilelor la lumină de 10 ore zilnic.

Varianta 6 (3 ghivece): plantele sînt ținute 40 zile la lumină de 16 ore și apoi restul zilelor la lumină de 10 ore zilnic.

La sfîrșitul experienței (după 85 zile) se constată că grîul Lutescens 62 cu care s-a lucrat nu înspică dacă este ținut numai 5—10 zile la lumina de 16 ore, ci rămîne sub formă de tufe, cu tulpina scurtă și cu un sistem radicular puternic dezvoltat (fig. 189). Din această cauză se recomandă semănatul timpuriu al grîului de primăvară, cînd zilele sînt scurte, pentru a se provoca formarea unui sistem radicular bogat, precum și o înfrățire abundentă, condiții optime pentru dezvoltarea ulterioară a plantelor. În cazul cînd este ținut timp de 20 de zile la lumină

Scanned with OKEN Scanner

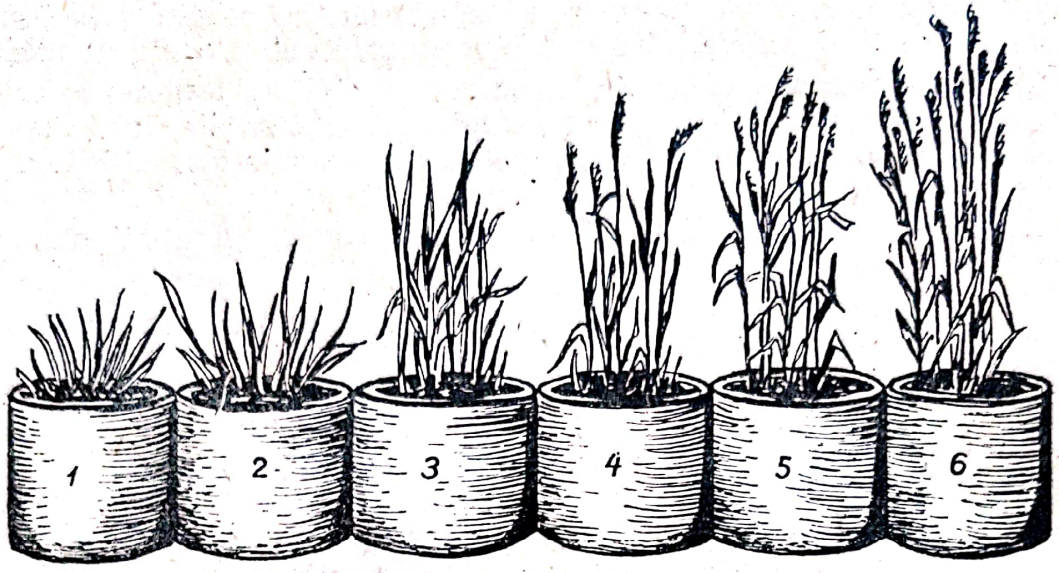


Fig. 189. Aspectul plantelor de grîu Lutescens 62 supuse unui regim neegal de lumină:

1 — 5 zile lungi; *2* — 10 zile lungi; *3* — 20 zile lungi; *4* — 30 zile lungi; *5* — 40 zile lungi; *6* — martor, ţinut tot timpul în zile lungi.

de cîte 16 ore, dă spice sterile şi numai dacă este luminat minimum 30 de zile grîul dă spice fertile.

Experienţa arată totodată că înălţimea tulpinii este direct proporţională cu numărul de zile lungi de lumină.

BIBLIOGRAFIE

1. Avakean, A. A., Eastreb, M. G., O *ieobratimost estodiinih proţesov*. Agrobiologhia —6, Moskva, 1949.
2. Iakuşkin, I. V., *Fitotehnica*, Bucureşti, Ed. de stat, 1951.
3. Lîsenko, T. D., *Agrobiologia*, Bucureşti, Ed. de stat, 1950.
4. Maximov, N. A., *Fiziologia plantelor*, Bucureşti, Ed. de stat pt. lit. ştiinţifică, 1951.
5. Pop, E., Péterfi, Şt., Sălăgeanu, N., Chirilei, H., *Manual de fiziologia plantelor*, vol. I, Bucureşti, E.D.P., 1964.
6. Sălăgeanu, N., Chirilei, H., Iliescu, Em., *Reacţia de lumină*, Com. Acad. R.P.R., T. 2, 11—12, Bucureşti, 1952.
7. Sălăgeanu, N., Chirilei, H., Iliescu, Em., *Durata stadiului de lumină*, Com. Acad. R.P.R., T. 3, 5—6, Bucureşti, 1953.
8. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, I., Krasnoselskaia, G. A., Miller, M. S., Anikiev, V. V., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, Sovetskaia Nauka, 1953.
9. Sisachian, N. M., Filippovici, I. I., *Caracteiul metabolismului în dezvoltarea stadială a organismului*, Anal. rom.-sov., Seria biologie, 4., 1953.
10. Valuţă, G., *Iarovizarea plantelor*, Bucureşti, Ed. agro-silvică, 1954.

CAPITOLUL X

MIȘCĂRILE PLANTELOR

de conf. univ. dr. EMILIA CUPCEA

Plantele prezintă mișcări *fizice*, care se petrec în țesuturi formate din celule moarte, și mișcări *fiziologice*, care se nasc prin activitatea protoplasmei vii. Acestea din urmă sînt bazate pe procese excitative, constituind un răspuns al plantei la influențele externe (mișcări *provocate*), ori sînt declanșate de cauze pur interne (mișcări *spontane*), ca, de exemplu, nutațiile (v. experiența nr. 277). Mișcările fizice (mecanice), care au loc independent de protoplasma vie, fără excitație, se realizează predominant prin modificări de *imbibiție* (v. experiența nr. 263), dar și prin schimbări de *coeziune* (v. experiența nr. 264). Mișcările fiziologice se pot manifesta în interiorul celulelor fixe; așa sînt curenții *protoplasmatici* (v. experiența nr. 265) sau mișcarea *cloroplastelor* (v. experiența nr. 266). La organismele unicelulare sau la coloniile formate de ele, întregul corp se poate deplasa animat de mișcări vii de locomoție, numite *taxii* (v. experiențele nr. 267—269). La plantele pluricelulare, fixate cu rădăcini, locomoția este exclusă și mișcarea nu se poate manifesta decît prin *curbarea organelor* (tulpini, pețioluri, frunze, organe florale, rădăcini). Mișcările de curbură se produc ca urmare a faptului că celulele care alcătuiesc cele două laturi opuse ale organului cresc cu viteze diferite *(mișcări de creștere)* sau au turgescența deosebită *(mișcări de turgescență)*. În cazul cînd direcția mișcării este hotărîtă de direcția excitantului, vorbim de *tropisme* (v. experiențele nr. 270—273). Cînd excitația nu face decît să declanșeze mișcarea, fără a o orienta, direcția sa fiind dictată de structura plantei, se vorbește de *nastii* (v. experiențele nr. 274—276).

1. MIȘCĂRI FIZICE

Experiența nr. 263

MIȘCĂRI PRIN IMBIBIȚIE

Mișcările prin imbibiție (higroscopice) au loc în țesuturile moarte ale plantelor, în urma uscării sau a umezirii (cu vapori sau apă lichidă). Mărirea și micșorarea dimensiunii fibrelor vegetale, prin imbibare și dèsimbibare, este mai accentuată de-a curmezișul decît în lungul lor. De aceea, dacă într-un organ vegetal se găsesc suprapuse două membrane sau straturi celulare, în care orientarea fibrelor nu este aceeași, imbibiția și desimbibiția organului vor fi anizotrope, adică fețele lui se vor lungi sau scurta în mod inegal. Consecința este curbarea organului. Aceasta se poate manifesta ca o *înfășurare* și *desfășurare* (cînd fibrele de pe o parte a organului sînt paralele, iar cele de pe fața opusă sînt transversale față de axa longitudinală a fîșiei de țesut) sau ca o *răsucire* (torsiune) și *dezrăsucire* (dacă fibrele de pe cele două fețe sînt perpendiculare între ele, dar oblice față de axa longitudinală a organului).

a) *Imbibiția anizotropă a hîrtiei.* Pentru explicarea mecanismului mișcărilor prin imbibiție la plante, este util să se observe curburile executate de fîșii duble de hîrtie, cu ocazia uscării, după ce au fost îmbibate. Hîrtia este un material care se îmbibă

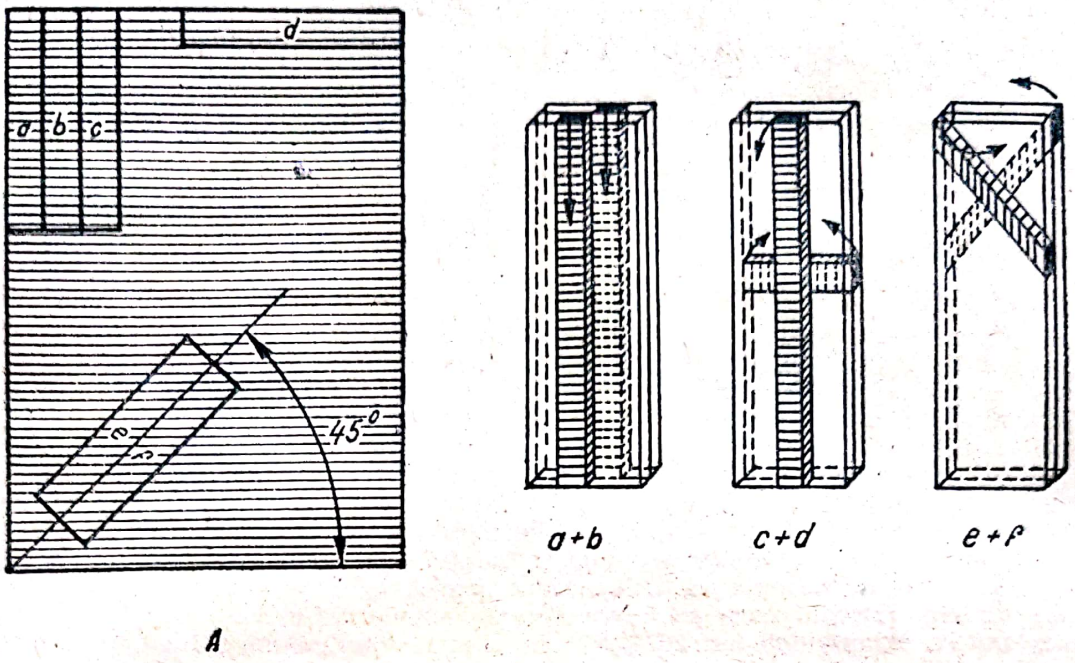


Fig. 190. Îmbibiția anizotropă a hîrtiei :

A — modul de tăiere a fișiilor de hîrtie pentru experiența de imbibiție; *B* — orientarea fibrelor în fișiile duble : *a+b* — fibre paralele (scurtare) ; *c+d* — fibre încrucișate (înfășurare) ; *e+f* — fibre încrucișate oblic (răsucire) (după L. Brauner și O. Stocker).

anizotrop, pentru că, prin fabricarea ei, fibrele sînt orientate aproape paralel, în direcția sulului de hîrtie (în coala de hîrtie sînt perpendiculare pe latura lungă).

Se taie dintr-o coală de hîrtie de mașină 6 fișii egale, de 12 × 2 cm, orientate ca în figura 190 și notate cu literele indicate aici. Fișiile se țin în apă timp de un minut, apoi se lipesc cu clei de amidon cîte două, spate în spate (adică cu fețele nenotate cu litere), astfel: *a+b*, *c+d*, *e+f*. Cele 3 fișii duble îmbibate se pun imediat la uscat (suspendate cu cleme de întins rufe, pe o sîrmă, deasupra unui bec sau radiator) și se urmărește schimbarea formei lor prin desimbibare. Modelul *a+b*, în care fibrele celor două straturi suprapuse sînt paralele între ele, nu se curbează, dar se scurtează puțin. La modelul *c+d*, în care fibrele, paralele cu marginile fișiei, se încrucișează perpendicular, se observă o înfășurare ca la arcul de ceasornic. Modelul *e+f*, care are fibrele tot încrucișate, însă orientate oblic față de marginile fîșiei, se răsucește ca un șurub (torsiune).

b) *Observarea mișcărilor prin imbibiție la plante.* Mișcări de înfășurare, care se realizează pe baza orientării fibrelor vegetale ca în modelul *c+d*, se observă la multe plante. Ele vor apărea deosebit de evident dacă materialul vegetal, uscat întîi în uscător sau deasupra unui bec, se ține peste baia de apă în clocot sau se scufundă în apă caldă.

Conurile uscate de conifere *(Pinus, Picea, Larix)* au solzii îndepărtați. Dacă se îmbibă cu apă, aceștia se curbează spre axă, acoperindu-se (fig. 191). Mișcarea rezultă din aceea că, prin îmbibare, partea inferioară (externă) a solzului se lungește mai mult decît cea superioară, fiindcă are fibrele orientate transversal, pe cînd pe fața internă fibrele sînt longitudinale. La uscare, tot partea inferioară este cea care se desimbibă

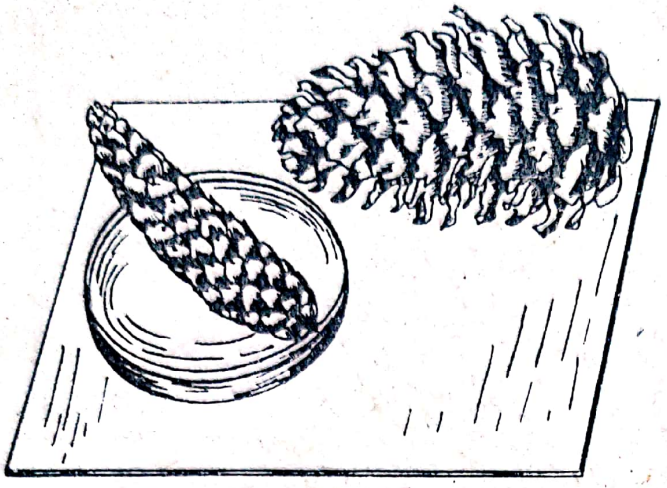


Fig. 191. Conul de conifere este deschis în stare uscată (dreapta) și închis după ce a stat în apă (stînga).

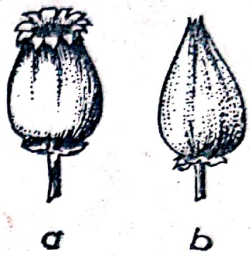


Fig. 192. Capsula de *Melandrium*:
a — în stare uscată; *b* — după scufundare în apă caldă (după R. Kolkwitz).

(deci se scurtează) mai puternic; de aceea, solzii se îndepărtează de axă. Efectul este foarte vizibil dacă se scufundă în apă numai jumătatea conului. Solzii din apă se strîng, iar cei din aer rămîn îndepărtați, ceea ce face ca partea îmbibată să pară mult mai mică.

Capitulul uscat de flori de paie *(Helichrysum bracteatum)* sau cel de turtă *(Carlina acaulis)* se deschide la uscăciune (xerochazie), iar dacă se scufundă în apă, se închide în cîteva minute, luînd formă de sferă, pentru că partea inferioară a foilor involucrale se îmbibă mai puternic decît cea superioară.

La capsula de opaiță *(Melandrium album)* și de neghină *(Agrostema ghitago)* se pot urmări mișcări higroscopice de deschidere la uscăciune și de închidere prin scufundare în apă caldă (fig. 192).

Rosa Ierichonului *(Anastatica hierochuntica)* efectuează mișcări de înfășurare, bazate tot pe mecanismul modelului *c+d*, însă la planta aceasta aranjamentul fibrelor este tocmai invers celui descris pînă aici; de aceea, și mișcările ei decurg invers. Planta întreagă, cu ramurile uscate, îndoite spre axă și strînse ca un pumn, se pune în apă fierbinte. Ea se deschide la umezeală *(higrochazie)* în decurs de o oră. La *Anastatica*, latura internă a ramurilor este cea care sufere imbibări și desimbibări mult mai accentuate decît cea externă, deoarece fibrele de pe această parte sînt orientate transversal față de axa ramurii (cele de pe fața externă fiind longitudinale). Dacă se scoate din apă planta și se usucă, se văd mișcările de închidere. La fel se comportă struțișorii *(Selaginella)*: punem în apă un exemplar uscat; ramurile care fuseseră adunate ghem se întind.

Mușchiul de pămînt *(Polytrichum commune)* are frunzișoarele îndoite spre interior și apropiate de tulpină la uscăciune (micșorarea transpirației). Dacă îl îmbibăm în apă, frunzișoarele se îndepărtează de tulpină în 15 minute.

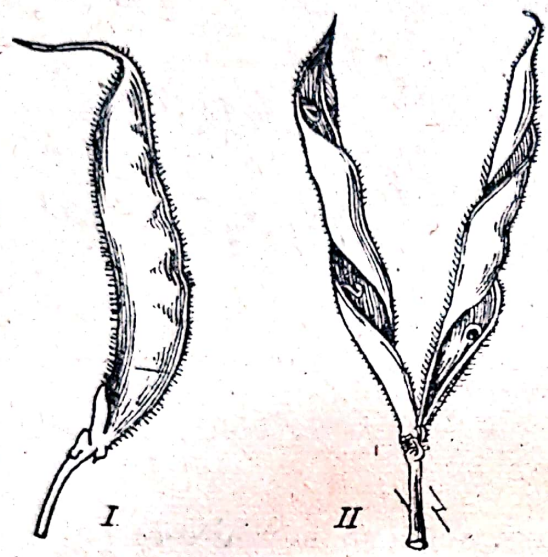


Fig. 193. Fruct de *Lupinus polyphyllus*: *I* — închis, *II* — deschis (după W. Troll).

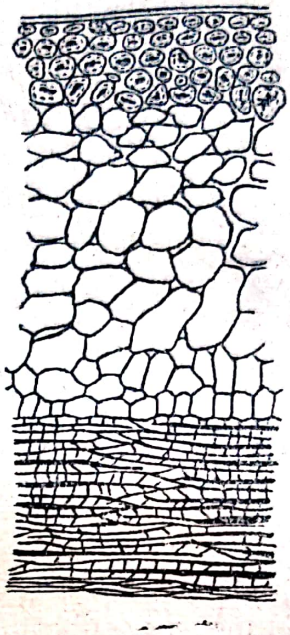


Fig. 194. Secțiune transversală prin păstaia de *Caragana arborescens*: fibrele sclerenchimatice din stratul extern sînt perpendiculare pe cele din stratul intern (după L. Brauner).

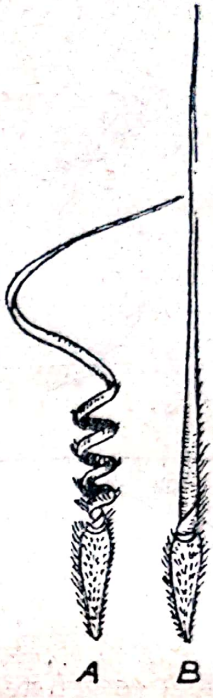


Fig. 195. Fruct de *Erodium cicutarium*: *A* — uscat; *B* — în stare umedă (după H. Lundegardh).

Curburi de torsiune (răsucire în spirală), după modelul *e+f*, au loc cu ocazia uscării la păstăile multor leguminoase (fig. 193), datorită faptului că fibrele sclerenchimatice suprapuse sînt așezate perpendicular între ele și oblic față de axa longitudinală a păstăii (fig. 194). O păstaie uscată de salcîm galben *(Laburnum, Caragana)* se scufundă în apă caldă. Se observă că ea se îndreaptă. Cînd se pune la uscat, păstaia se răsucește din nou.

Mișcări de torsiune prezintă și seta de *Funaria hygrometrica*. Folosim ca suport un fragment de măduvă de soc, în care înfigem seta de *Funaria*, apoi o scufundăm cîteva minute în apă caldă, după care o așezăm din nou să stea drept. Ea începe să se rotească încet în jurul axei sale. Seta îmbibată este dreaptă, iar cînd se usucă efectuează mișcări de torsiune, luînd forma de șurub.

Fructele parțiale de pliscul cucoarei *(Erodium cicutarium, E. ciconium)* au o prelungire ascuțită, care este extrem de higroscopică. La umezeală se îndreaptă, la uscăciune se răsucește în spirală, vîrful i se curbează în formă de seceră și se rotește lateral (fig. 195). Mișcarea se poate observa procedînd ca în cazul setei de *Funaria* sau punînd mai multe fructe pe pămîntul umed ori pe hîrtia de filtru umectată dintr-un cristalizor. Prin mișcările de înșurubare, fructul se adîncește în pămînt. Cu fructul de *Erodium ciconium* se poate confecționa un *higrometru* simplu *(H. Molisch)*. Se perforează la mijloc o bucată pătrată de carton alb și se fixează aici, cu capătul

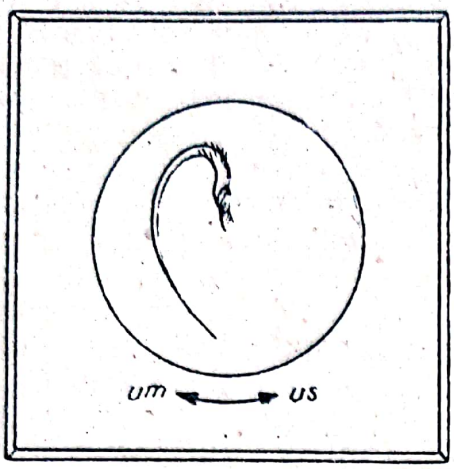


Fig. 196. Higrometrul lui Molisch confecționat din fructul de *Erodium ciconium* (după H. Molisch)

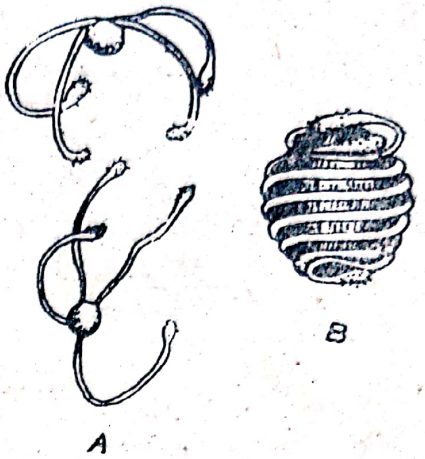


Fig. 197. Mișcările higroscopice ale elaterelor sporilor de *Equisetum*:
A — elaterele sînt întinse la uscăciune;
B — sporul cu elaterele strînse în spirală la umiditate (după O. Stocker).

inferior, un fruct parțial de *Erodium* (fig. 196). Cînd umiditatea aerului crește, vîrful prelungirii fructului se rotește ca arătătorul de la ceasornic, în sensul săgeții notat cu „um". Cu scăderea umidității se mișcă invers, spre „us".

Mișcări similare constatăm la fructul de colilie *(Stipa)*, pe care l-am îmbibat în apă, apoi l-am șters și l-am fixat vertical în clema unui stativ. Pe măsură ce se usucă, observăm mișcările circulare ale aristei lungi și păroase.

Un material bun pentru observarea mișcărilor higroscopice îl constituie sporii de *Equisetum*. Pe o lamă de microscopie se pune cu acul puțină pulbere de spori (este bine ca lama să fie puțin unsă, pentru ca sporii să adere). Se examinează la microscop, cu mărire mică, fără să se acopere cu lamela. Se văd cele patru elatere întinse la uscăciune (fig. 197). Dacă se aburesc, suflînd ușor asupra lor, elaterele se înfășoară în spirală în jurul sporului, dar curînd se desfac, ca urmare a uscării.

Experiența nr. 264

MIȘCĂRI PRIN COEZIUNE

Acest tip de mișcare are loc la celule moarte, prin uscare, cînd tensiunea negativă a pereților celulari face ca ei să fie trași spre interior. Sporangii maturi ai ferigilor (*Aspidium filix mas, Polypodium vulgare* ș.a.) se deschid la uscăciune printr-un astfel de mecanism, bazat pe modificări de coeziune.

Mișcarea se poate urmări sub microscopul cu mărire mică, utilizînd un cristalizor mic, în care se așază un inel de sticlă (segment tăiat dintr-un tub), care va servi ca suport pentru lamelă. Înălțimea inelului este astfel potrivită, ca suprafața lamelei să fie exact sub marginea

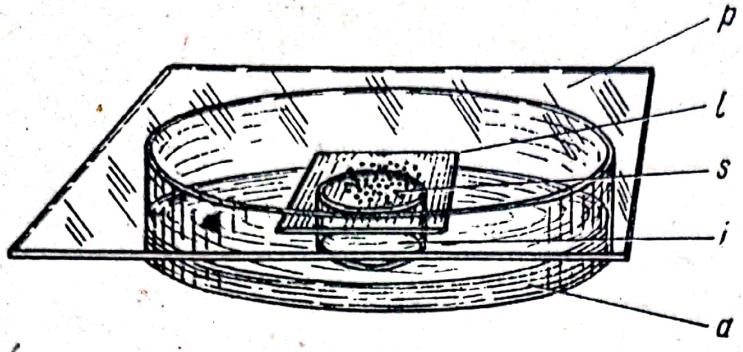


Fig. 198. Observarea deschiderii sporangilor de ferigi la microscop :

inel de sticlă ; l — lamelă ; s — sporangi de ferigi ; a — H_2SO_4 concentrat ; p — placă de sticlă (după Brauner L. — Bukatsch F.).

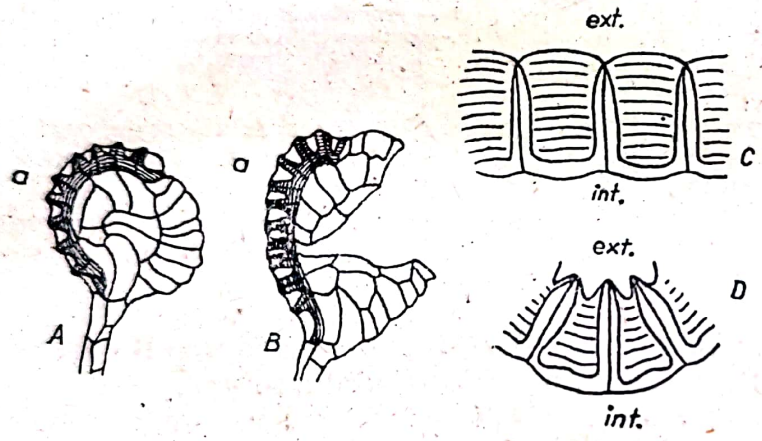


Fig. 199. Sporange de ferigă :

A — închis ; B — deschis : a — annulus ; C — celulele annulusului în stare inițială, pline cu apă ; D — după evaporarea parțială a apei : e — exterior ; int. — interior (după Noll și Boysen-Jensen).

cristalizorului (fig. 198). Lamela se lipește pe inel, iar în cristalizor se pune H_2SO_4 concentrat (d= 1,84), pentru menținerea unei atmosfere uscate. Pe lamelă se pun sporangii, cu un ac, de pe dosul frunzei de ferigă. Se unge cu vaselină gura cristalizorului și se acoperă cu o placă subțire de sticlă (pentru diapozitive). Se va observa mișcarea de deschidere a sporangilor, ca urmare a tensiunii ce se naște în urma evaporării apei din celulele annulusului. Pe măsură ce apa se pierde, datorită coeziunii ei interne și adeziunii sale la pereții celulari, celula se contractă, așa că membranele externe subțiri sînt trase înăuntru, iar pereții radiali îngroșați se apropie între ei (fig. 199). Scurtarea părții externe a annulusului provoacă ruperea sporangelui.

2. MIȘCĂRI INTRACELULARE

Experiența nr. 265

CURENȚII PROTOPLASMATICI

a) *Observarea mișcării.* Mișcarea protoplasmei se poate observa examinînd materialul vegetal, într-o picătură de apă de robinet, între lamă și lamelă, la un microscop cu măritor puternic, în cîmp luminos sau în cîmp întunecat, ori la microscopul cu contrast de fază.

Ne dăm seama că protoplasma vie se deplasează, urmărind mișcarea particulelor, vizibile la microscopul optic, pe care ea le antrenează

(microsomi, cloroplaste). Cînd se face examinarea în cîmp întunecat, microsomii apar ca puncte luminate, care se mișcă pe fondul negru. Trebuie să se urmărească sistematic deplasarea aceleiași particule.

Materiale potrivite pentru studiul curenților protoplasmatici sînt: 1) Perii staminali, scoși cu o pensă fină din floarea de *Tradescantia virginica* sau de *Rhoeo discolor:* în celulele acestor peri se poate urmări mișcarea de rotație, din citoplasma periferică, și cea de circulație, din cordoanele citoplasmatice (fig. 200). Aici se poate observa că direcția mișcării dintr-un cordon nu este constantă, ci își schimbă sensul tot la 10—15 minute. 2) Frunza (întreagă) de *Elodea canadensis,* în care curenții devin deosebit de evidenți pentru că antrenează în mișcare cloroplastele. Mișcarea cea mai vie o prezintă celulele alungite din dreptul nervurii mediane, de pe partea superioară a frunzei. 3) Secțiuni, nu prea subțiri, prin frunza de *Vallisneria spiralis.* 4) Fragmente din epiderma superioară a bulbului de *Allium cepa,* în care mișcarea nu este prea intensă, în schimb materialul are avantajul că este ușor de procurat și de mînuit (epiderma, formată dintr-un singur strat de celule, se desprinde ușor). 5) Perișorii sugători de la rădăcinile plantelor de *Hordeum.*

Fig. 200. Celulă din părul staminal de *Tradescantia virginica* (după Kühne din Strugger).

b) *Măsurarea vitezei mișcării.* Rapiditatea cu care se mișcă protoplasma variază cu materialul vegetal (diferă chiar în același țesut de la o celulă la alta sau în diversele părți ale aceleiași celule) și cu condițiile externe (traumatism, lumină, chimicale, căldură).

Pentru evaluarea vitezei curenților protoplasmatici, se examinează preparatul la microscopul prevăzut cu micrometru ocular și se urmărește mișcarea particulelor (microsomi sau cloroplaste) antrenate de protoplasmă, între două semne de pe scara micrometrului.

Întîi se determină valoarea micrometrică a microscopului (v. experiența nr. 235) pentru combinația de ocular-obiectiv cu care se va face observația. Se stabilește apoi, cu un cronometru stop, timpul în care organitul observat parcurge distanța de 10 diviziuni. Dacă, de exemplu, o diviziune de pe scara micrometrică este egală cu 3 μ, atunci 10 diviziuni corespund la 30 μ. Cînd particula observată a parcurs distanța de 10 diviziuni (= 30 μ) în timp de 3 secunde, înseamnă că viteza mișcării sale (adică spațiul parcurs în unitatea de timp) este de 10 μ/s.

Pentru stabilirea vitezei se fac cel puțin 30 de citiri și apoi se calculează media lor aritmetică. Valoarea obținută va fi cu atît mai apropiată de aceea a vitezei reale a mișcării protoplasmei cu cît este mai mică particula a cărei antrenare a fost urmărită. Măsurarea vitezei cu ajutorul deplasării cloroplastelor este mai ușoară, dar mai neprecisă. Pentru

determinări mai exacte se recomandă urmărirea mișcării microsomilor. Vitezele curenților protoplasmatici sînt foarte diferite, de la aproape imperceptibile pînă la peste 1 000 μ/s.

Experiența nr. 266

MIȘCAREA FOTOTACTICĂ A CLOROPLASTELOR

Cloroplastele își pot schimba locul în celulă în funcție de intensitatea luminii. În lumina moderată ele se așază în general pe locurile care primesc cea mai multă lumină, pe cînd în lumina vie se mută pe părțile cele mai puțin luminate.

Plăntuțe de lintiță *(Lemna trisulca)* se pun în două cristalizoare cu apă din mediul natural în care trăiește planta. Unul dintre vase se așază în lumină difuză, celălalt în plin soare, și ambele se țin în aceste condiții timp de 45 de minute. După aceea, se examinează la microscop cîte o plantă întreagă sau un fragment din ea, între lamă și lamelă, cu un măritor mijlociu. Sub epiderma incoloră se văd celulele cu cloroplaste. La planta din lumina slabă, cloroplastele apar uniform repartizate pe toată suprafața celulei (fig. 201, *I*, *a*), căci s-au așezat pe pereții perpendiculari pe direcția razelor (cum se poate vedea în secțiunea transversală din fig. 201, *I*, *b*). La plantele ținute în soare, iluminarea puternică a provocat mișcarea cloroplastelor spre pereții laterali (fig. 201, *II*, *a* și *b*), paraleli cu razele luminoase.

Mișcări fototactice similare se pot observa la cloroplastele din frunza mușchilor *Funaria hygrometrica* și *Mnium*.

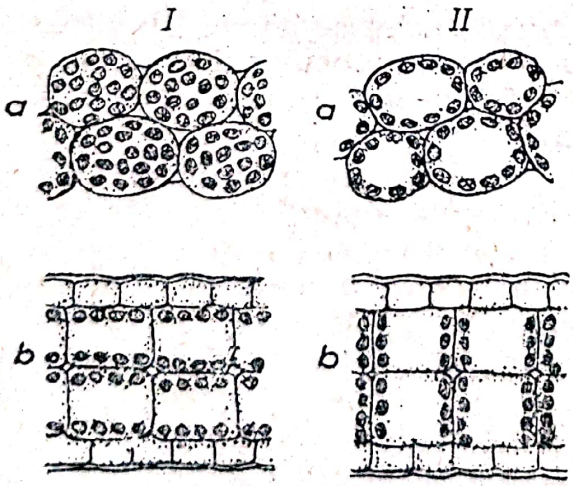


Fig. 201. Mișcarea fototactică a cloroplastelor din *Lemna trisulca*:
I — în lumină slabă; *II* — în lumină intensă: *a* — văzut de sus; *b* — în secțiune transversală (după A. Guilliermond).

3. TAXII

Taxiile sînt mișcări orientate de un factor din mediul ambiant care acționează asimetric asupra unui organism mobil. Majoritatea plantelor inferioare mobile, care posedă clorofilă se deplasează în apa inegal luminată după direcția razelor de lumină, adică manifestă o *fototaxie* (v. experiența nr. 267). Unele bacterii, mobile și aerobe, execută o mișcare orientată de prezența oxigenului în mediu, o *aerotaxie* (v. experiența nr. 268). În experiența nr. 269 descriem modul cum poate fi observată locomoția deosebit de vie a spirililor.

Experienţa nr. 267.

FOTOTAXIA ALGELOR

Pentru observarea deplasării organismelor fototactice după direcţia razelor de lumină, ne procurăm cianoficee, cum sînt filamentele de *Oscillatoria*, care execută mişcări de tîrîre. Aceste plante se găsesc ca o pieliţă mucilaginoasă verde-neagră, pe nămol, pe pămînt foarte umed sau pe pietrele umede, în bazinele de apă ori pe ghivecele vechi din sere. Se pot păstra pe nisip menţinut umed.

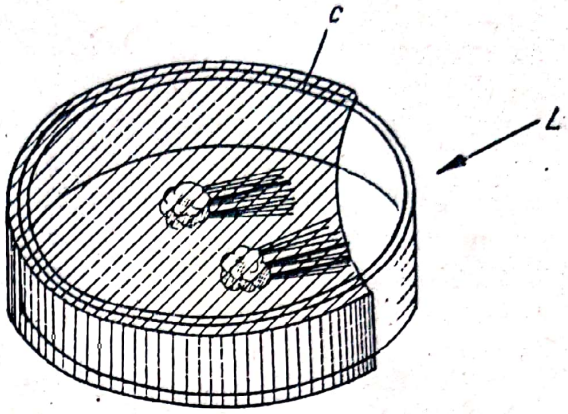


Fig. 202. Fototaxia la *Oscillatoria*: *c* — capac de întunecare din hîrtie neagră; *L* — direcţia luminii (după O. Stocker).

Într-o cutie Petri se pun trei straturi de hîrtie de filtru, se umectează bine şi se aşază pe acest substrat un fragment din pieliţa de cianoficee. Capacul cutiei se îmbracă în hîrtie neagră, care nu lasă să treacă lumina decît printr-o mică deschidere laterală (fig. 202). Cutia se aşază orientînd această deschidere spre o fereastră nordică. Se observă că, în cîteva zile, filamentele efectuează o mişcare de tîrîre către lumină (fototaxie pozitivă).

Experienţa nr. 268

AEROTAXIA BACTERIILOR

Cu o săptămînă înainte de experienţă se pune zilnic în cîte un mic vas Erlenmeyer (de 50 ml) cîte un bob de mazăre zdrobit, peste care se varsă puţină apă de conductă, de temperatura camerei. Vasele se astupă cu vată şi se ţin la căldură (în termostat sau într-o cutie cu rumeguş de lemn, acoperită şi aşezată lîngă sobă). În lichidul din flacoane se vor înmulţi intens o serie de bacterii mobile şi avide de oxigen.

Se ia cu pipeta cîte o picătură din suspensiile de bacterii şi se observă la microscopul cu condensatorul coborît. Din seria de culturi, unele vor fi în stadiul potrivit, cuprinzînd bacterii numeroase, care se mişcă viu, aglomerîndu-se la marginea lamelei şi în jurul bulelor de aer de sub ea, căci oxigenul din stratul subţire de lichid de sub lamelă se consumă repede. Experienţa reuşeşte bine cînd lichidul cu suspensia de bacterii se pune pe lamă sub forma unui cerc, peste care se aşază o lamelă cu marginile unse cu vaselină. Acum bacteriile nu mai găsesc oxigen la marginea lamelei, de aceea se îngrămădesc în jurul bulei centrale de aer, formînd un inel.

Scanned with OKEN Scanner

Experiența nr. 269

MIȘCAREA SPIRILILOR

Spirilii sînt bacterii în formă de bastonașe cu mai multe curburi (în formă de șurub), dotate cu organite locomotorii: cîte un buchet de flageli la fiecare extremitate. Aceștia execută mișcări foarte vii de rotație, care imprimă corpului bacteriei o rotație contrară mișcării lor, prin care spirilul se înșurubează în apă. Pe preparatele de bacterii vii nu se pot vedea flagelii, dar se observă mișcarea corpului bacterian. Material potrivit pentru studiul mișcării spirililor se obține ușor punînd într-un mic cristalizor băligar de cal și puțin fîn, peste care se toarnă apă ca să-l acopere și se ține la căldură (25—30°C). În 24—72 de ore se formează, pe marginea vasului, o pieliță alburie. Din aceasta se ia cu ansa un fragment, se pune pe lamă și se acoperă cu lamela. La microscopul bine luminat se văd spirili mari în mișcare. Observarea trebuie făcută repede, pînă cînd nu se usucă preparatul.

Material foarte bun de spirili se poate afla în zeama gunoiului de grajd și de pe lîngă cotețele porcilor. Preparatul se obține atingînd fața lamelei de suprafața acestui lichid.

4. TROPISME

Tropismele sînt mișcări de curbură, efectuate de organele vegetale pe cale de creștere, sub influența unor factori externi, ca: gravitația (*geotropism*, v. experiența nr. 270), lumina (*fototropism*, v. experiența nr. 271), substanțele chimice (*chimiotropism*, v. experiența nr. 272), umiditatea (*hidrotropism*, v. experiența nr. 273) ș.a. În cazul tropismelor, orientarea mișcării este determinată de direcția excitantului. Curbura are loc pe direcția din care acționează excitantul, fie în sens pozitiv (tropism pozitiv), fie în sens contrar, negativ (tropism negativ).

Experiența nr. 270

GEOTROPISMUL

Geotropismul tulpinii și al rădăcinii

1) *Experiență cu plantule.* Cele două organe axiale ale plantei, rădăcina și tulpina, se comportă deosebit față de atracția terestră. Trei plantule (de mazăre, bob, porumb, lupin, fasole etc.), crescute în rumeguș de lemn, cu rădăcinițe puternice și drepte, lungi de 2—3 cm, se așază în trei poziții diferite și se țin în condiții favorabile de creștere (căci geotropismul este o mișcare de creștere):

Scanned with OKEN Scanner

a) În poziție *normală*, adică cu rădăcina verticală îndreptată cu vîrful în jos. Aceasta este poziția de odihnă stabilă, în care nu are loc nici un impuls geotropic.

b) În poziție *orizontală*, cînd rădăcina formează cu verticala un unghi de 90°, excitația geică atinge mărimea sa maximă.

c) În poziție *inversată*, cu vîrful rădăcinii în sus. Aceasta este a doua poziție de odihnă, însă nestabilă, căci la cea mai mică abatere de la verticală a organului, prin nutații, acesta este supus acțiunii geice.

Fixarea plantulelor în cele trei poziții se poate realiza în diferite moduri. Cotiledoanele plantulelor se îmbracă în vată umedă și se fixează cu ace, la un suport de plută, care se așază pe o farfurie cu apă și se acoperă cu un clopot de sticlă, peste care se pune o cutie de carton (fig. 203). O altă modalitate este să se fixeze plantulele pe un cilindru făcut din carton îndoit, care se menține umed punîndu-se cu baza pe o farfurie cu apă și se acoperă cu o cutie, pentru a se feri de lumină. Experiența reușește bine și cînd se folosește o cuvetă dreptunghiulară de sticlă, care se umple pînă la jumătate cu pămînt. Apoi se pun, între sticlă și pămînt, semințe germinate, care se alipesc de peretele transparent, așa ca să se poată vedea atît rădăcina, cît și tulpina. După aceea se umple recipientul cu pămînt și se păstrează la cald și în întuneric.

În decurs de 1—4 ore, vîrful rădăcinii se îndreaptă spre pămînt, indiferent de poziția inițială. Mai tîrziu se vede că, sub acțiunea gravitației, ambele organe axiale se orientează în direcție verticală (ortogeotrop), însă în sens opus: tulpina în sus și rădăcina în jos (fig. 204). Cele două laturi din regiunea de creștere a tulpinilor și a rădăcinilor, aflate într-o poziție înclinată față de verticală, cresc inegal sub efectul excitației gravitației. Latura dinspre pămînt a tulpinii crește mai puternic decît cea opusă; ca urmare, vîrful său se îndreaptă în sus (geotropism negativ). Rădăcina reacționează invers; fața sa dinspre pămînt

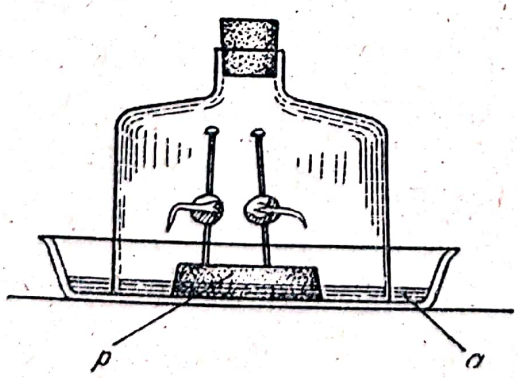


Fig. 203. Dispozitiv pentru observarea geotropismului:

p — suport de plută cu două plantule așezate orizontal; *a* — apă (după W. Detmer).

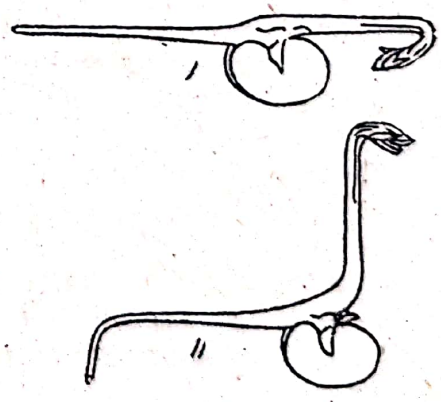


Fig. 204. Plantulă de bob *(Vicia faba)*:

I — în poziție orizontală; *II* — aceeași plantulă după ce a reacționat prin curbarea geotropică a rădăcinii și tulpinii (după W. Troll).

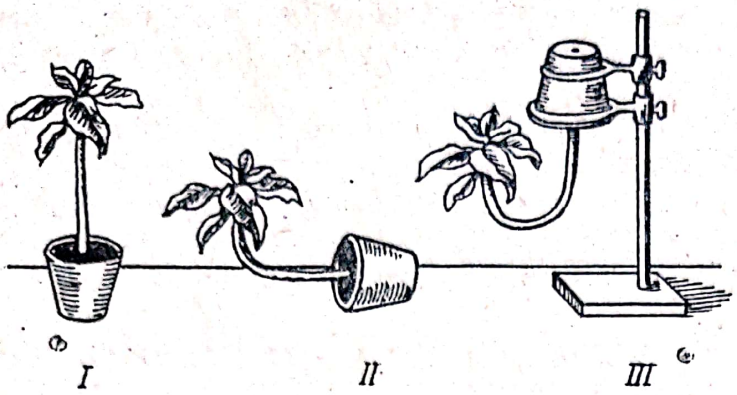


Fig. 205. Curbura geotropică negativă a tulpinii :
I — planta în poziție normală (martor); *II* — poziție orizontală; *III* — poziție inversată.

se alungește mai puțin decît cealaltă; de aceea, vîrful ei se îndreaptă către pămînt (geotropism pozitiv).

După mai mult timp, se va observa orientarea rădăcinilor laterale. Acestea cresc oblic, formînd un unghi cu axul de la care pleacă (rădăcina principală), adică sînt orientate diageotrop (geotropism transversal sau diageotropism). Poziția geotropică a ramificațiilor rădăcinii se poate vedea foarte bine la plantele crescute sub sticlă, în cuveta cu pămînt.

2) *Experiență cu plante în ghiveci.* Curbura geotropică negativă a tulpinii se poate studia ușor la *Coleus*. Trei ghivece cu *Coleus*, cu pămîntul bine udat, se țin la cald: I în poziție normală, II orizontal și III inversat. În ultimul caz, pămîntul din ghiveci se acoperă cu hîrtie și se leagă cu sfoară, ca să nu cadă, după care ghiveciul se fixează cu gura în jos, în inelul unui stativ (fig. 205). În 6—24 de ore, vîrfurile tulpinilor din II și III se îndreaptă în sus, luînd poziția normală pe care o are planta-martor (I). Aceasta este consecința curbării geotropic negative.

3) *Experiența cu tulpinile articulate de graminee.* Cînd o tulpină de graminee este orizontală, gravitatea stimulează să crească din nou părțile inferioare (dinspre pămînt) ale nodurilor. Deoarece laturile lor superioare rămîn neschimbate, în dreptul nodurilor se produce o curbură în formă de genunchi, și paiul se ridică vertical (fig. 206).

Se scot din pămînt și se sădesc în ghiveci graminee tinere, avînd cîteva internoduri. Se udă pămîntul, apoi se așază ghiveciul în poziție orizontală. În decurs de 24 de ore se vor produce curburile geotropice la noduri (fig. 206, *III*).

Se taie segmente tinere din tulpina de graminee, așa ca să aibă la mijloc un nod (fig. 206, *I*). Se pune pe o farfurie nisip umed, formînd în centru un

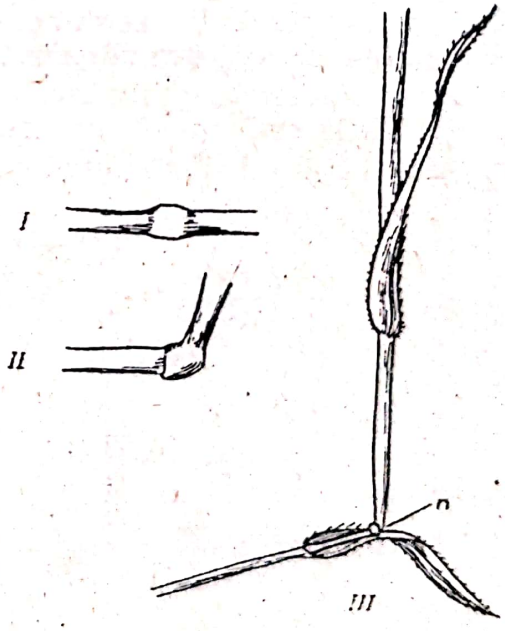


Fig. 206. Geotropismul tulpinilor de graminee :
I — fragment de pai în poziție orizontală;
II — același pai după curbarea geotropică;
III — o tulpină care prezintă ridicarea geotropică la un nod (*n*) (după W. Troll).

mic muşuroi. În acesta se fixează, cu un capăt, segmentele de pai, în poziţie orizontală. Se păstrează în întuneric, menţinîndu-se umed nisipul. După cîteva ore, paiul se curbează în dreptul nodului şi ca urmare internodul se îndreaptă în sus (fig. 206, *II*).

Curburile geotropice ale tulpinilor articulate, în dreptul nodurilor, se observă bine şi la *Tradescantia*.

4) *Geotropismul rădăcinilor secundare.* Rădăcina principală este geotropic pozitivă, crescînd vertical în jos. Rădăcinile secundare de primul ordin se orientează formînd un unghi ascuţit cu verticala. Cînd se aşază rădăcina principală în poziţie inversată, rădăcinile secundare execută o curbură în jos, aşa încît direcţia nouă a creşterii formează cu verticala acelaşi unghi ca mai înainte.

Se pun seminţe germinate de bob *(Vicia faba)* în cutia cu pereţi de sticlă a lui Sachs (fig. 207, *A*) sau într-un vas dreptunghiular de sticlă, aproape plin cu pămînt. Seminţele se aşază pe pămînt, alipite de peretele intern, deci vizibile prin sticlă. Se umple apoi complet vasul cu pămînt, se udă şi se ţine mai multe zile la cald şi în întuneric. Rădăcina principală creşte direct în jos, lipită de geam, iar cele secundare de ordinul întîi cresc oblic în jos, formînd un unghi cu verticala (unghi geotropic limită).

După ce au apărut rădăcinile secundare şi s-a văzut orientarea lor, se acoperă cutia cu un capac şi se răstoarnă cu gura în jos. Astfel am inversat plantulele, îndreptînd în sus vîrful rădăcinii principale. După 24 de ore se observă curburile geotropice ale rădăcinilor secundare (fig. 207, *B*).

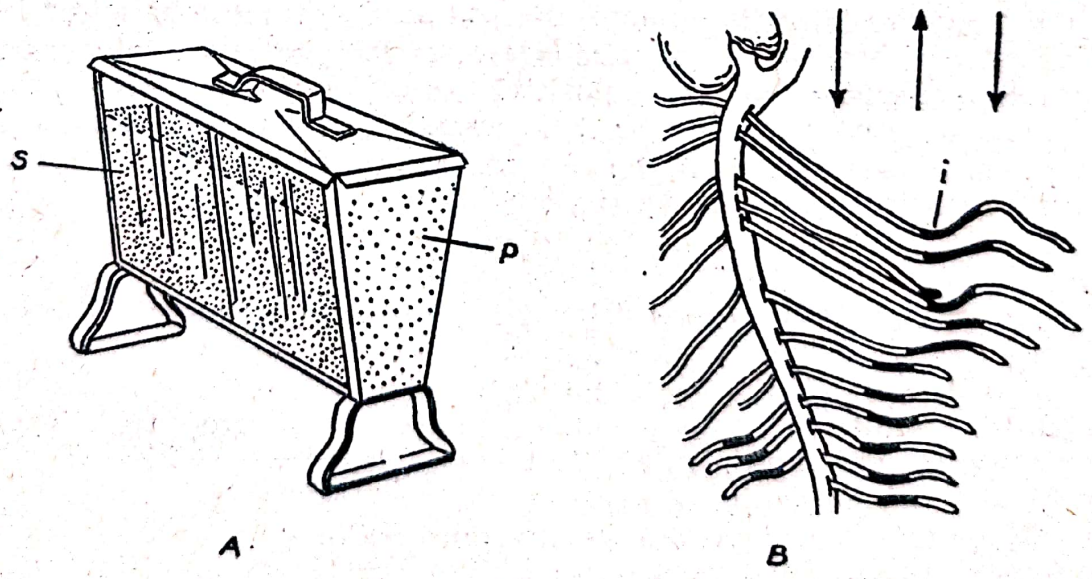


Fig. 207. Geotropismul rădăcinilor secundare :
A — cutia lui Sachs : *s* — perete de sticlă înclinat cu 10°; *p* — perete metalic perforat; *B* — rădăcină de bob crescută sub sticlă, întîi în poziţie normală, apoi inversată şi din nou normală : *i* — porţiunea crescută în poziţia inversată (după F. Rawitscher).

Lucrul mecanic executat de rădăcină în timpul curbării geotropice (Pinot)

În experiența nr. 233 (v. fig. 165), descrisă în capitolul despre *Creșterea plantelor*, s-a văzut că rădăcinița plasată orizontal, pe fața mercurului, se curbează în jos, pătrunzînd activ în mercurul cu greutate specifică mare, deci învingîndu-i rezistența. Înseamnă că rădăcina nu este atrasă spre pămînt de gravitate ca un corp mort, pasiv, ci avem a face cu o mișcare de creștere activă, în care se efectuează un lucru mecanic.

Regiunea senzorială (zona de percepție) a rădăcinii în geotropism

Regiunea senzorială a rădăcinii față de excitația geică este vîrful organului. Aceasta se poate dovedi prin tăierea vîrfului, urmată de așezarea rădăcinii amputate în poziție orizontală.

Se experimentează cu plantule (de bob, mazăre, porumb etc.) cu rădăcinițe drepte de 2—3 cm, crescute în rumeguș umed de lemn. Se scot cu grijă plantulele din rumeguș, ținîndu-se vertical (evitarea inducției geotropice!); se alipește rădăcinița la o lamă de microscopie, ținută tot vertical, și se retează 1,5—2 mm din vîrf, cu o lamă ascuțită de ras. Apoi se așază în unul din modurile descrise în experiența nr. 270, 1, de preferință într-un vas dreptunghiular de sticlă sau o cutie Sachs, cu nisip umed. Se fixează și cîteva plantule intacte în poziție orizontală, ca martor. Se marchează poziția vîrfului rădăcinilor cu cîte un mic triunghi de hîrtie gumată, lipit de peretele extern al vasului cu nisip. Se va observa că, pe cîtă vreme rădăcinile plantulelor-martor efectuează curbura geotropică pozitivă, cele decapitate, deși se alungesc, nu se curbează, ci continuă să crească orizontal. Deoarece prin tăierea vîrfului rădăcina a devenit insensibilă la excitația geică, înseamnă că vîrful este sediul percepției în geotropism.

Regiunea motoare (zona de reacție) a rădăcinii în geotropism

Ne folosim de cutia lui Sachs sau de vase dreptunghiulare de sticlă umplute cu nisip umed, ca în experiența precedentă (experiența nr. 270, 4), și de plantule de bob *(Vicia faba)*, cu rădăcini drepte de 2 cm.

Se marchează rădăcinile cu diviziuni milimetrice, pe o distanță de 1 cm de la vîrf (v. experiența nr. 230, *a*), și se așază pe nisipul umed, în poziție orizontală, alipite de perete, așa ca să se vadă diviziunile prin sticlă. Se acoperă cu nisip. Pe peretele extern se marchează poziția inițială a vîrfului rădăcinii, folosind, ca reper, un triunghi de hîrtie

gumată, cu vîrful exact în dreptul primei diviziuni (fig. 208, *I*). După 2 pînă la 24 de ore se observă că vîrful se curbează în jos la triunghiul de hîrtie. Acest reper și diviziunile cu care au fost marcate rădăcinile arată că zona de curbură se confundă cu regiunea de maximă creștere (fig. 208, *II* și *III*). Deci regiunea motoare a rădăcinii în geotropism este zona de întindere.

Dacă în locul marcărilor sub formă de mici liniuțe se efectuează diviziuni inelare, iar rădăcina orizontală se fixează în atmosferă umedă, se va vedea totodată că curbura geotropică se produce prin creșterea neegală a celor două fețe ale organului.

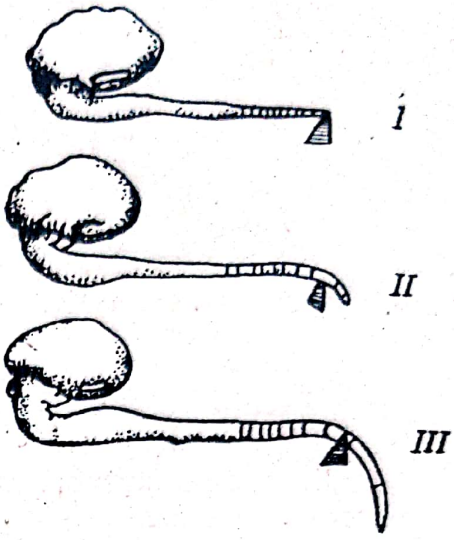


Fig. 208. Zona de reacție a rădăcinii în geotropism:
I — aspect inițial al rădăcinii de bob; *II* — după 7 ore; *III* — după 24 de ore (după N. Maximov).

Anularea efectului gravitației asupra plantelor cu clinostatul

Organele sensibile la acțiunea gravitației, ținute în poziție orizontală și supuse unei rotații lente (1—10 ture pe oră) în jurul axei lor, nu prezintă curbura geotropică. Lucrul se explică prin faptul că în cazul acesta excitația geică nu mai este unilaterală. Deoarece toate fețele organului sînt excitate succesiv de gravitație, efectele se anulează reciproc, iar organul continuă să crească drept.

Aparatul cu care se poate realiza această rotire este clinostatul, alcătuit dintr-un organ motor (dispozitiv de ceasornic) care antrenează în mișcare de rotație, în jurul său, un ax. Se poate regla atît poziția axului (vertical, oblic sau orizontal) cît și viteza sa (0,5—45 cm/min).

Un ghiveci cu o plantă tînără și dreaptă de *Coleus* se fixează solid, în poziție orizontală, la extremitatea axului orizontal al clinostatului, căruia i se imprimă o mișcare înceată. Alături, pe masă, se așază orizontal un alt ghiveci cu o plantă de *Coleus*, dar acesta se menține în repaus.

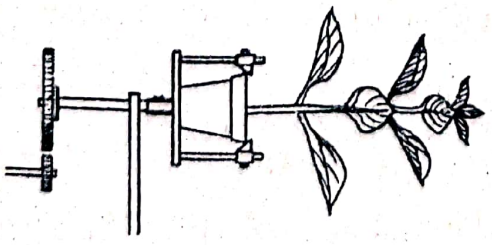


Fig. 209. Anularea efectului gravitației cu clinostatul (după W. Troll).

În cîteva ore se înregistrează o deosebire între cele două plante: tulpina plantei-control, ținută nemișcată, se curbează în sus, pe cînd planta de pe clinostat continuă să crească drept, orizontal, fără să reacționeze geotropic (fig. 209).

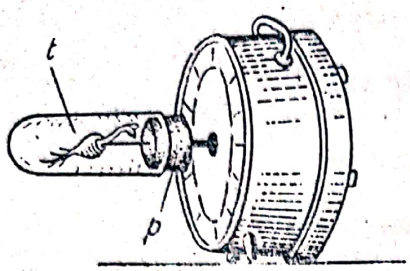


Fig. 210. Clinostat improvizat dintr-un ceasornic:
p – dop de plută; *t* – tub de sticlă în care este planta (după Brauner – Bukatsch).

Pe axul clinostatului se poate adapta un recipient tubular din sticlă groasă, care formează o cameră umedă și ne permite să experimentăm cu plantule care ar fi expuse uscării la aer. Plantulele, cu cotiledoanele îmbrăcate în vată umedă, se fixează cu ace pe un disc de plută montat pe axul clinostatului, așa ca rădăcinile să fie orizontale și libere din toate părțile. În cilindrul de sticlă care înconjură axul se varsă puțină apă, apoi se pune clinostatul în mișcare. Se va constata că rădăcinițele nu vor prezenta reacția geotropică.

În lipsa clinostatului putem folosi un ceas deșteptător solid, căruia i se scot arătătoarele și se înlocuiesc cu un suport de plută (fig. 210). Plantula se fixează orizontal cu un ac înfipt în plută și se acoperă cu o eprubetă ușoară (sau cu un tub de tablete) în care sînt cîteva picături de apă.

Experiențele lui Knight

Experiențele lui Knight dovedesc că geotropismul se datorește gravitației.

Se experimentează cu roata de apă a lui Oels, reprezentată în figura 211. Se pun mai multe plantule în poziții diferite, fixîndu-se cu ace pe discurile de plută de la periferia roții verticale, care se rotește în jurul unui ax orizontal. Roata este pusă în mișcare de curentul de apă de la robinet. La fiecare rotație plantele se scufundă în apa din vana de zinc; de aceea nu este nevoie de cameră umedă.

După viteza de rotație, se prezintă două cazuri:

a) Cînd roata se mișcă încet, tulpinile și rădăcinile cresc fără să prezinte curburi, păstrîndu-și orientarea inițială (fig. 212, *a*). Trecînd în cursul fiecărei rotații prin toate pozițiile posibile față de pămînt, efectele gravitației asupra plantei se opun reciproc și se anulează.

b) Cînd roata se mișcă cu viteză mare, organele plantelor prezintă reacții de curbură, plasîndu-se în cele din urmă în direcția ramei: toate rădăcinile se îndreaptă spre periferia roții, în sensul forței centrifugale, iar tulpinile spre centrul ei, centripet (fig. 212, *B*).

Deci forța din pămînt, care acționează asupra orientării plantei, se poate înlocui cu forța centrifugă.

În a doua experiență a lui Knight ne servim de o turbină de apă, legată cu un tub de cauciuc la conducta de apă. Cu ajutorul acesteia se rotește axul vertical al unei roți orizontale, așezată deasupra unei tăvi metalice cu apă (fig. 213).

Plantulele, cu cotiledoanele îmbrăcate în vată umedă, se fixează în poziție normală (vertical) la periferia roții. Se asigură o atmosferă umedă prin acoperire cu un clopot de sticlă.

Scanned with OKEN Scanner

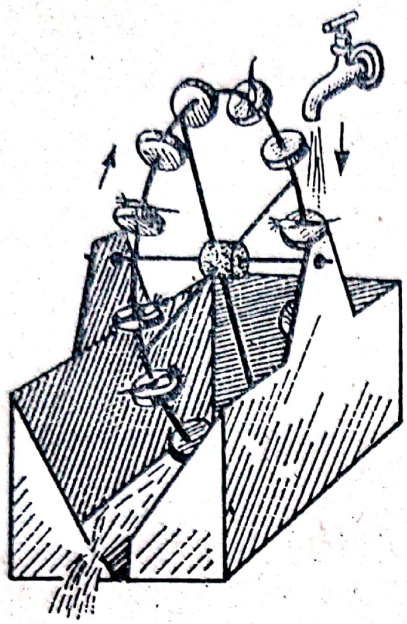


Fig. 211. Roata de apă a lui Oels (după Brauner — Bukatsch).

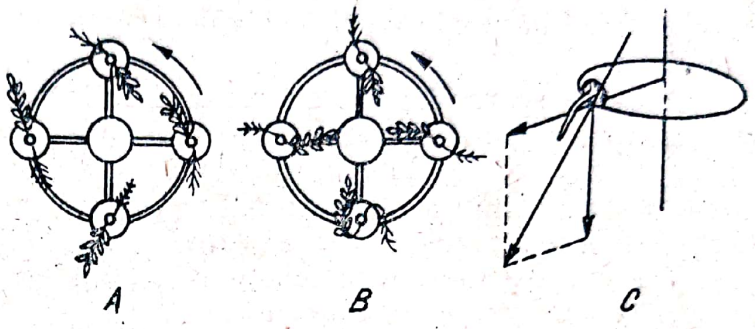


Fig. 212. Roata lui Knight :
A — mișcare încetată — poziția plantulelor rămîne cea inițială ; *B* — mișcare rapidă — rădăcinile orientate de forța centrifugă spre periferie, tulpinile spre centru ; *C* — orientarea organelor la viteză mijlocie (după Belzung).

Orientarea finală a plantulelor depinde de viteza de rotație și este un rezultat al efectului combinat al forței centrifugale și al gravitației. La o viteză foarte mică, gravitația este predominantă și plantele cresc în poziție verticală, normală, ca și cînd roata ar sta pe loc. La o viteză foarte mare predomină forța centrifugă, anulînd complet efectul gravitației: plantele se dirijează orizontal, cu rădăcinile spre periferie și cu tulpinile spre centru. La o viteză mijlocie efectul gravitației nu este complet anulat, cele două forțe care acționează asupra plantei (gravitațională și centrifugală) se combină, iar organele se dirijează oblic, în sensul ce corespunde rezultantei dintre ele, conform paralelogramului forțelor (fig. 212, *C*).

Concluzia care reiese din cele două experiențe ale lui Knight: dacă forța din pămînt, care dirijează orientarea plantelor, se poate înlocui sau combina cu forța centrifugală, care este o forță mecanică, ea însăși trebuie să fie o forță de natură mecanică, deci nu poate fi vorba decît de gravitate.

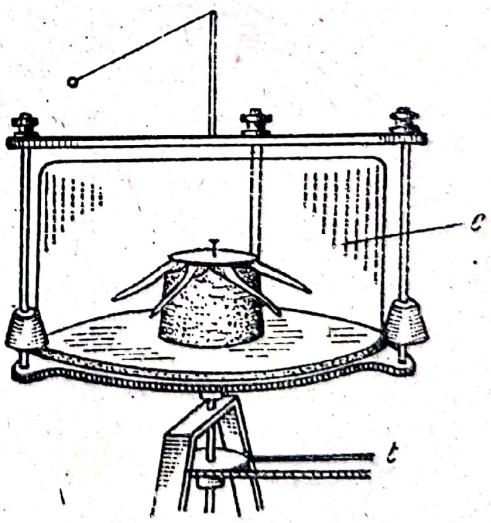


Fig. 213. Influența forței centrifuge asupra rădăcinilor :
c — clopot de sticlă ; *t* — legătura cu turbina (după R. Kolkwitz).

Experienţa nr. 271

FOTOTROPISMUL

Fototropismul tulpinii şi al rădăcinii. Experienţa cu camera fototropică (sau heliotropică)

Se poate demonstra că direcţia luminii incidente este decisivă pentru poziţia fototropică de echilibru a unui organ vegetal, înlocuind lumina de zi cu un fascicul îngust de raze, care luminează planta unilateral.

Aceasta se realizează cu camera heliotropică, formată dintr-o cutie de lemn cu capac, bine încheiată, cu interiorul vopsit în negru mat şi prevăzută cu o deschidere mică prin care lumina pătrunde unilateral. Camera heliotropică permite o limitare foarte precisă a radiaţiilor luminoase şi se caracterizează prin lipsa luminii reflectate. De aceea, plantele expuse iluminării nesimetrice din această cameră răspund prin reacţii foarte rapide şi precise.

Într-un ghiveci cu pămînt se seamănă des, pe un singur rînd, *Lepidium sativum*, *Vicia sativa* sau *Sinapis alba*. La un capăt al rîndului se înfige o baghetă verticală ca reper. Se udă bine pămîntul şi se germinează seminţele la cald, în camera obscură. Cînd plantulele au atins lungimea de 2—3 cm se trece ghiveciul în camera heliotropică şi se aşază aşa ca plantulele să nu se umbrească reciproc, adică şirul lor să fie perpendicular pe direcţia luminii. În cîteva ore, tulpinile prezintă curbura fototropic pozitivă; poziţia lor este rezultanta dintre acţiunea luminii şi a gravitaţiei. Tulpinele reacţionează la repartiţia inegală a intensităţii de lumină printr-o creştere neegală a celor două laturi; partea luminată creşte mai încet decît cea umbrită, de aceea tulpina se dirijează către lumină.

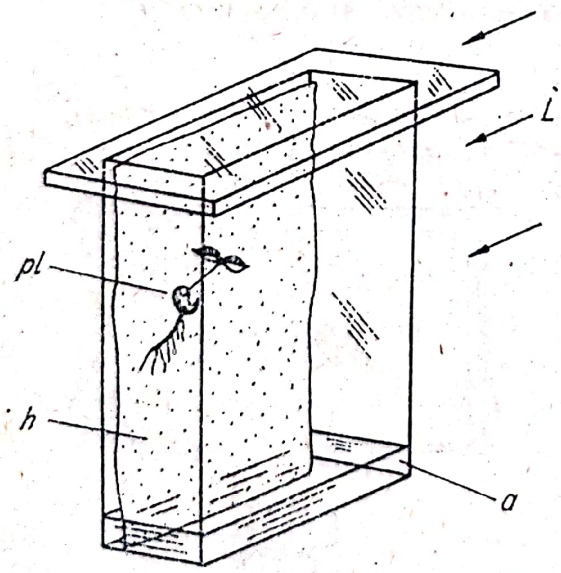


Fig. 214. Observarea fototropismului la plantulele de *Sinapis*:
L — direcţia luminii; *h* — hîrtie de filtru; *a* — apă; *pl* — plantula (nu este reprezentat învelişul de hîrtie neagră) (după O. Stocker).

Dacă peste deschiderea camerei heliotropice se montează filtre colorate de sticlă, se poate urmări (pe plantule de *Lepidium*, expuse 4 zile) influenţa culorii luminii asupra reacţiei. Se va afla că în lumina albastră are loc curbura fototropică.

Pentru a afla care este efectul luminii laterale asupra ambelor organe, tulpină şi rădăcină, ne servim de o cuvetă mică de sticlă (10×3×5 cm), la care se îmbracă un perete intern, vertical, lat, cu hîrtie de filtru sau cu sugativă (fig. 214).

Scanned with OKEN Scanner

Aceasta se menține umedă, deoarece pe fundul cuvetei se află un strat de apă. Pe hîrtia de filtru se pun trei semințe de muștar *(Sinapis alba)*, care aderă cu mucilagiile lor. Cuveta se acoperă cu un capac uns cu vaselină și se îmbracă în hîrtie neagră, lăsînd să pătrundă lumina doar printr-o singură fantă laterală, îngustă (2 × 12 cm). Tulpinița se îndreaptă spre lumină (fototropism pozitiv) iar rădăcina în sens contrar (fototropism negativ). Menționăm că sînt puține rădăcinile fotosensibile.

Fototropismul frunzelor

Se cresc în ghiveci plante de călțunași *(Tropaeolum majus)* și se așază lîngă un perete așa ca să fie luminate numai dintr-o parte. Pețiolurile se dirijează spre sursa de lumină, iar limbul foliar perpendicular pe direcția razelor (fototropism transversal). Foarte sensibile sînt și frunzele de măzăriche și linte.

Regiunea senzorială (zona de percepție) a tulpinii în fototropism

Sediul percepției pentru excitația luminii este vîrful tulpinii (coleoptilului). Se cresc plantule de ovăz *(Avena sativa)* în 3 ghivece cu pămînt, pe cîte un singur rînd. Cînd coleoptilele sînt de 2 cm se începe experiența, care se efectuează în camera obscură, la lumina roșie. Coleoptilele din primul ghiveci se decapitează, retezîndu-se 3 mm din vîrf cu o lamă ascuțită de ras. La al doilea ghiveci vîrfurile coleoptilelor se sustrag acțiunii luminii, acoperindu-se pe o distanță de 3 mm, cu capișoane minuscule de staniol, făcute prin mularea staniolului pe vîrful creionului. La al treilea ocrotim de lumină partea inferioară a coleoptilului, îngropînd-o în nisip umed și lăsînd afară numai 3 mm din vîrf.

Toate trei seriile de plante, astfel preparate, se expun la lumină unilaterală în camera heliotropică. Rezultatul se controlează după 2, maximum 6 ore. Se constată că la coleoptilele decapitate sau cu vîrful acoperit cu ecran de staniol nu se produce curbura fototropică. La coleoptilele cu vîrful expus luminii unilaterale, deși partea inferioară era în întuneric, se efectuează curbura fototropic pozitivă. Deci, regiunea sensibilă, adică zona care percepe excitația luminoasă, se află în vîrful coleoptilului.

Anularea efectului luminii unilaterale asupra plantei cu clinostatul

Dacă tulpina plantei, luminată unilateral, se rotește încet și continuu în jurul axei sale, efectul luminii este suprimat, planta nu prezintă curbura fototropică. Două plante de *Coleus*, cu tulpinile drepte, se așază în lumina unilaterală: una din ele (martor) în repaus, iar a doua se rotește încet pe discul orizontal al clinostatului (montat cu

Scanned with OKEN Scanner

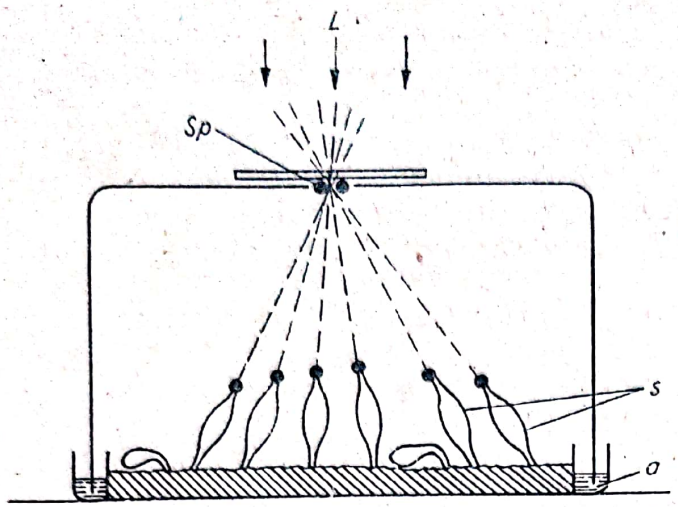


Fig. 215. Fototropismul la *Pilobolus* :
s — sporangioforii curbați în direcția luminii ; *sp* — sporangi aruncați pe geamul luminat ; *L* — direcția luminii ; *a* — apă (după W. Rawald).

axa verticală). În lipsa clinostatului se lucrează cu o plantulă pusă într-un recipient ușor, care se rotește pe axa arătătoarelor unui ceasornic solid așezat orizontal, pe spate.

Plantele-martor vor prezenta fototropismul pozitiv. Cele care au fost mișcate pe clinostat cresc vertical, drept, pentru că au fost supuse excitației luminii succesiv, pe toate fețele, iar efectul acestor excitații s-a-neutralizat.

Fototropismul la Pilobolus

Ciuperca *Pilobolus crystallinus* se dezvoltă în scurtă vreme pe băligarul de cal, ținut umed, la cald. Se umple cu băligar un cristalizor și se presează suprafața așa ca să fie netedă. Se așază cristalizorul într-un acvariu dreptunghiular, cu puțină apă, și se acoperă cu o placă de sticlă. Se îmbracă apoi totul în hîrtie neagră, în care se lasă o singură fereastră prin care să intre lumina, sau se pune acvariul într-o cameră heliotropică, în care caz cristalizorul se așază înclinat în calea fasciculului de lumină. Se păstrează la căldură. În 7—14 zile, toată suprafața băligarului apare acoperită de sporangiofori, care execută curburi pozitiv fototropice, aplecîndu-se spre orificiul prin care pătrunde lumina (fig. 215). Cînd sînt maturi, sporangii sferici, de culoare brună-neagră, sînt desprinși de sporangiofori și aruncați cu putere spre sursa de lumină și se lipesc pe porțiunea luminată a peretelui de sticlă.

Experiența nr. 272

CHIMIOTROPISMUL RĂDĂCINILOR

Pentru producerea excitației chimiotropice a rădăcinilor trebuie să realizăm un dispozitiv în care concentrația substanței care acționează să fie mai mare pe o față a organului decît pe cea opusă.

a) *Metoda cu gelul de gelatină.* Soluția substanței de studiat se pune într-o scobitură din mijlocul unei mase de gel de gelatină, în jurul căreia sînt înfipte vertical rădăcinile plantelor. Substanța difuzează în

gel, dar destul de încet, aşa încît rădăcinile sînt supuse unei diferenţe de concentraţii.

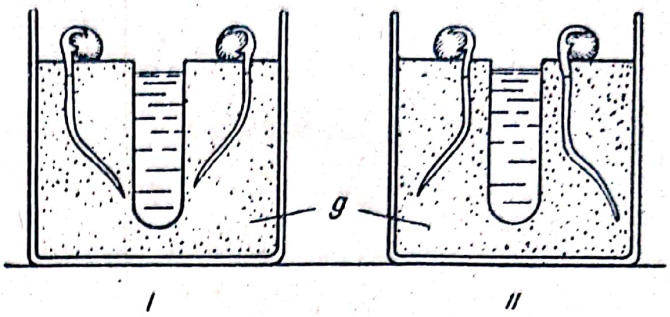


Fig. 216. Chimiotropismul rădăcinilor de lupin: *I* — reacţie pozitivă pentru fosfatul de amoniu; II — negativă pentru NaCl; *g* — gelatină (după W. Troll).

Punem soluţie fierbinte 6—8% gelatină în două vase largi de sticlă (înălţimea 12, diametrul 15 cm) după ce am fixat, vertical, în mijlocul lor, cîte o eprubetă mare, cu diametrul de 3 cm, susţinută de clema unui stativ. După ce soluţia de gelatină s-a prins prin răcire într-un gel, se pune apă fierbinte în eprubete, ca să se poată scoate afară (repede), fără să se rupă gelul. În locul eprubetei rămîne în mijloc o scobitură. Golul acesta din centrul masei de gel se umple cu soluţia cu care dorim să experimentăm: în vasul *A*, soluţie 1—2% $(NH_4)_2HPO_4$ sau $NH_4H_2PO_4$, iar în *B*, soluţie 1—2,5% NaCl (ambele în apă distilată).

Se lucrează cu plantule de lupin (*Lupinus albus*) sau de mazăre *(Pisum sativum)*, cu rădăcini de 1,5—4 cm, drepte, spălate. Cîte 6 plantule se fixează în cerc în jurul scobiturii, înfigînd rădăcinile vertical în gelatină (se pot face în prealabil canale înguste cu un ac de împletit, încălzit). Cele două vase se aşază într-un recipient mai mare, cu puţină apă şi cu sugativă lipită pe pereţi, pentru asigurarea unui spaţiu umed. Se acoperă cu un prosop umed şi se păstrează la întuneric. După cîteva zile se observă că rădăcinile s-au curbat: sub influenţa fosfatului, către scobitura centrală din care difuzează substanţa (chimiotropism pozitiv, fig. 216, *I*), iar sub efectul clorurii de sodiu, către pereţii vasului (chimiotropism negativ, fig. 216, II). Dacă se instalează infecţia cu microorganisme, experienţa nu reuşeşte, căci se lichefiază gelatina.

b) *Metoda curentului de soluţie.* Concentraţia diferită a substanţei, pe feţele opuse ale rădăcinii, se poate realiza prin mişcarea lentă, continuă şi în acelaşi sens a soluţiei în care sînt scufundate rădăcinile.

Curentul de lichid se produce printr-o mişcare de rotaţie a recipientului în care se găseşte soluţia, cu ajutorul unui clinostat, cu o viteză de 10—45 cm/minut. Plantulele sînt fixate în perforaţiile unor bare orizontale de lemn parafinat, suspendate pe faţa lichidului. Prin perforaţiile acestor suporturi, rădăcinile atîrnă în lichid, vertical liber (fig. 217, *A*).

Se experimentează cu plantule de porumb *(Zea mays* var. *alba)*, care au rădăcini drepte de 1—2 cm, într-o soluţie 1‰ $KHCO_3$ în apă bidistilată, la temperatura de 18—20°C. După 24 de ore, rădăcinile tuturor plantulelor prezintă curburi chimiotropice pozitive (contra curentului), cu unghiuri de 90° (fig. 217, *B*).

Se ştie că mişcarea apei bidistilate nu provoacă curbarea rădăcinilor. Curburile înregistrate aici se datoresc faptului că mişcarea con-

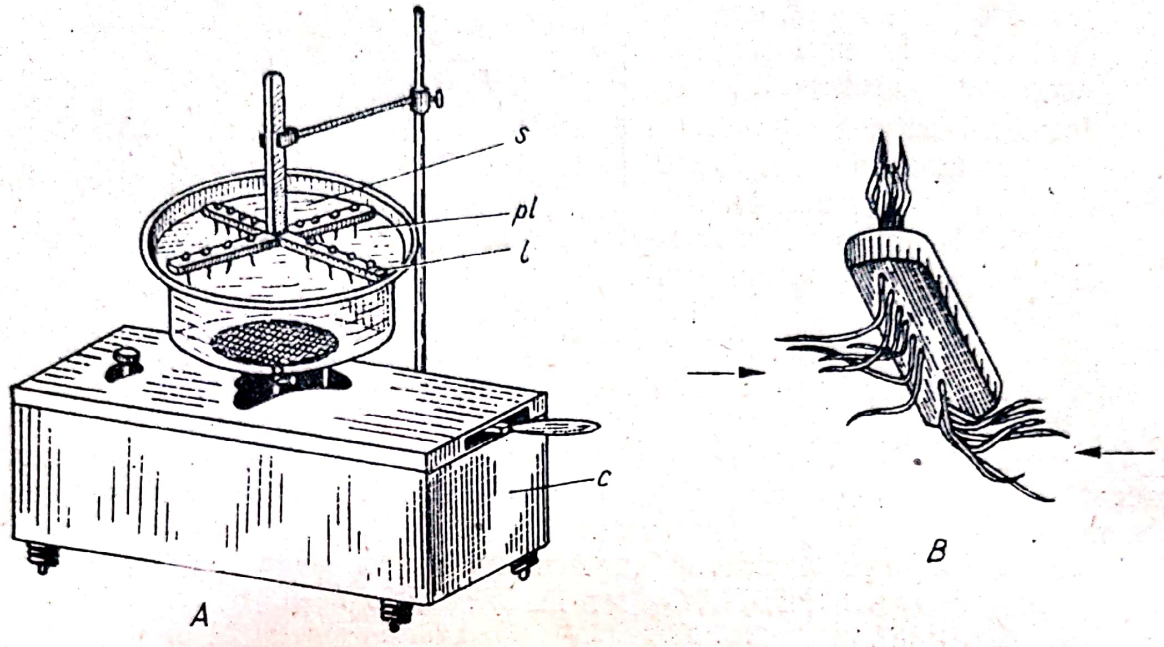


Fig. 217. Metoda curentului de soluție :
A — dispozitiv pentru studiul chimiotropismului rădăcinilor : *c* — clinostat ; *s* — soluție $KHCO_3$ 1 ‰ ; *l* — suport de lemn pe care sînt fixate plantulele ; *pl* — plantule ; *B* — rădăcini de porumb curbate chimiotropic pozitiv în soluția de $KHCO_3$.

tinuă a soluției are drept efect o concentrare a particulelor dizolvate pe fața rădăcinii direct expuse curentului. Această diferență de concentrație pe cele două laturi ale rădăcinii cauzează mișcarea sa de curbură.

Experiența nr. 273

HIDROTROPISMUL

a) *Experiența cu ciurul înclinat (Sachs).* Rădăcinile prezintă un hidrotropism accentuat, adică sînt orientate de repartizarea inegală a vaporilor de apă din mediul ambiant. Cînd umiditatea este diferită pe fețele lor opuse, rădăcinile se curbează spre zona cu umiditatea cea mai mare.

Experiența lui Sachs cu ciurul înclinat demonstrează hidrotropismul rădăcinii și interferența lui cu geotropismul. Într-un ciur cu cadrul de zinc și baza din plasă de sfoară, punem un strat de răzătură de lemn și mai multe rînduri de boabe de fasole *(Phaseolus vulgaris)* sau de mazăre *(Pisum sativum)*. Se umple apoi cu răzătură, se udă bine și se suspendă cu trei sfori la un stativ, așa ca să fie înclinat cu 45° față de orizontală. Sub ciur se așază o tavă mare cu apă. Întreg dispozitivul se pune într-un dulap, într-o cameră obscură umedă sau sub o cutie de carton.

Rădăcinile cresc și, datorită geotropismului lor pozitiv, ies afară prin ochiurile plasei și se îndreaptă în jos. Însă nu întîrzie să-și schimbe

direcția, părăsind verticala și crescînd de-a lungul suprafeței umede a ciurului (fig. 218). Aceasta pentru că rădăcina este supusă unei acțiuni unilaterale a umidității. În apropierea suprafeței ciurului, vaporii sînt mai concentrați. Ori, datorită înclinării, fața dinspre ciur a rădăcinii este supusă unei umidități mai mari. Partea opusă crește mai intens, așa că rădăcina se curbează spre umiditatea mai mare.

Uneori, rădăcina nu numai că se alipește de baza lui, ci reintră în ciur. Dar cînd ea se află din nou în rumegușul cu umiditate uniformă, excitația hidrotropică dispare și geotropismul devine eficient, făcînd ca rădăcina să părăsească din nou ciurul.

Experiența nu reușește în atmosferă uscată, căci rădăcinile se usucă; însă nici într-o atmosferă saturată cu vapori de apă, deoarece în acest caz nu există diferență de umiditate pe fețele organului. Reușita experienței depinde de producerea unei atmosfere potrivite: umedă, însă nesaturată.

b) *Experiența cu ghiveciul perforat (Molisch).* În partea superioară a unui ghiveci se fac cîteva perforații cu diametrul de 0,5 cm, care vor permite rădăcinilor să iasă afară. Ghiveciul se umple cu rumeguș umed de lemn, se îmbracă în sugativă și se așază pe o farfurie cu apă. Se sădesc apoi în el plantule de porumb, cu rădăcini de 1—2 cm, așa ca vîrfurile lor să treacă prin perforațiile de la margine și să atîrne vertical afară. Se acoperă totul cu o cutie neagră și se ține la cald. Rădăcinile cresc întîi vertical, dar curînd se curbează înapoi către peretele umed al recipientului (fig. 219).

c) *Observarea geo-, foto- și hidrotropismului la Lepidium (Kolkwitz).* În două vase cilindrice de sticlă se pune puțină apă, apoi se introduce în fiecare cîte o placă de sticlă (6 × 12 cm), învelită pe ambele fețe în hîrtie de filtru și așezată înclinat (fig. 220). Plăcile se în-

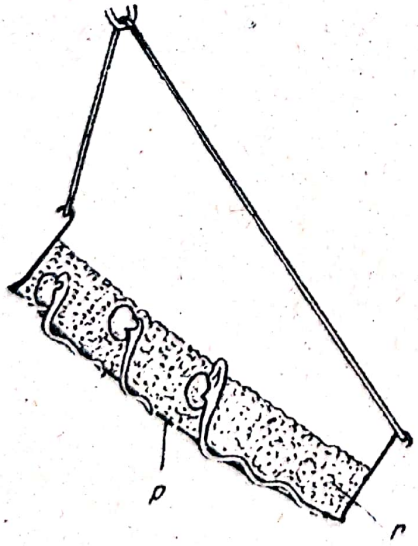


Fig. 218. Experiența cu ciurul înclinat :
p — plasa prin ochiurile căreia ies rădăcinile; *r* — rumeguș (după Sachs).

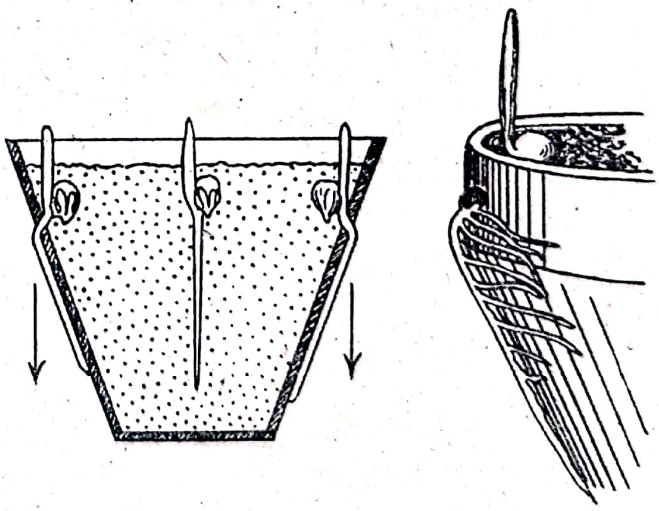


Fig. 219. Hidrotropismul rădăcinilor de porumb. Rădăcinile ieșite prin perforațiile ghiveciului cresc aderent pe suprafața lui umedă (după W. Troll și W. Mevius).

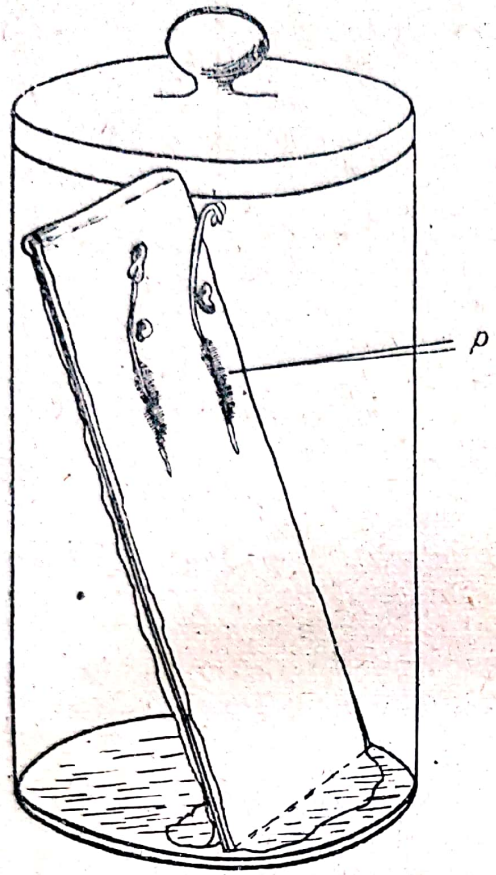


Fig. 220. Experienţa cu *Lepidium*: *p* — placă de sticlă învelită în hîrtie umedă de filtru (după R. Kolkwitz).

troduc în cilindru după ce pe fiecare faţă a lor am aşezat cu pensa cîte un rînd de seminţe de creson *(Lepidium sativum)*. Acestea aderă la hîrtie cu mucilagiile. Vasele se acoperă lejer cu capace de cutii Petri. Unul se ţine la întuneric, celălalt în lumină unilaterală, nemişcat.

După 4—6 zile pe acest material se pot face o serie de observaţii:

— Geotropismul pozitiv al rădăcinilor, manifestat prin faptul că rădăcinile de pe faţa superioară mulează placa, iar cele de pe latura inferioară cresc direct în jos (aceasta numai în atmosferă saturată cu apă, cînd nu se produc reacţii hidrotropice).

— Geotropismul negativ al tulpinii: la exemplarele de la întuneric, unde este exclus fototropismul, tulpinile cresc vertical în sus.

— Fototropismul pozitiv al tulpinilor: exemplarele luminate unilateral au tulpinile curbate evident către sursa de lumină.

— Hidrotropismul pozitiv al rădăcinilor: rădăcinile de pe dosul plăcii cresc alipit de hîrtia de filtru în cazul că atmosfera nu a fost saturată.

Să se observe şi manşonul de perişori absorbanţi crescuţi în atmosfera umedă (ei se usucă şi pier dacă se deschide vasul), precum şi picăturile de apă gutată de pe cotiledoane.

5. NASTII

Mişcări nastice efectuează unele organe cu structură dorsiventrală, sub influenţa factorilor externi cu acţiune difuză. Direcţia mişcării în cazul nastiilor este dictată de structura organului.

Experienţa nr. 274

SEISMONASTIA

Mişcări nastice provocate de factorul mecanic lovire sau scuturare (seismonastice) prezintă frunzele plantei *Mimosa pudica*. Observarea acestei mişcări se face pe plante tinere, crescute din se-

minte timp de 1—3 luni, în sera caldă și umedă. După ce s-au adus din grădina botanică, plantele se pun pe farfurii cu apă, acoperite cu clopote de sticlă prevăzute cu tub de aerisire și căptușite cu hîrtie umedă de filtru, și se țin în lumina solară directă, la căldură (25°C).

Se ridică încet clopotul de pe o plantă și se lovește ușor o foliolă, cu o baghetă de lemn. Se urmărește mișcarea de apropiere a fețelor foliolelor. Se observă efectul atingerii părții inferioare a pulvinulului de la baza pețiolului principal (reacție) și a părții lui superioare (reacția nu are loc). Dacă se excită puternic o foliolă, prin lovire sau ardere (atingere cu lemn aprins), se poate urmări clar cum se transmite pe rînd excitația la frunzele din ce în ce mai îndepărtate. Scuturînd puternic întreaga plantă, se va vedea aspectul ei după excitația totală (aplecarea tuturor pețiolurilor principale, apropierea celor secundare și alipirea foliolelor prin fețele superioare). Acum planta se acoperă cu clopotul și se observă revenirea ei înceată la poziția normală. Aceste mișcări au loc prin variații de turgescență.

Dacă se atinge cu un ac partea internă de la baza filamentului staminal al florii de dracilă *(Berberis vulgaris)* sau de *Mahonia*, stamina efectuează instantaneu o mișcare seismonastică spre centrul florii, lovindu-se de pistil (fig. 221). Mișcarea se poate provoca și prin zguduire, temperatură înaltă sau alți excitanți.

Frunzele de măcriș iepuresc *(Oxalis acetosella)* sînt sensibile la lovire. Se sădesc plante în mici ghivece sau pahare cu pămînt și se păstrează la lumină difuză: foliolele sînt întinse într-un plan. Dacă se lovește de mai multe ori cu un bastonaș de lemn partea inferioară de la baza foliolelor, unde sînt pulvinulele, foliolele se îndoaie pe nervura mediană și se apleacă în jos (fig. 222).

Inflorescența (capitulul) de bănuți *(Bellis perennis)* se închide dacă se scutură puternic sau se lovește.

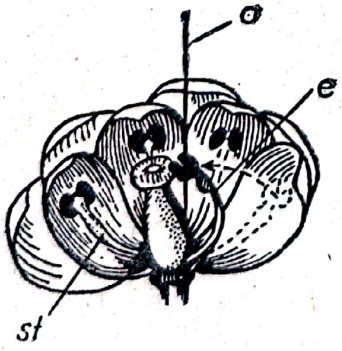


Fig. 221. Seismonastia filamentelor staminale de *Berberis*: *a* — ac *st* — stamină în poziție normală; *e* — filament staminal după excitație (după Brauner — Bukatsch).

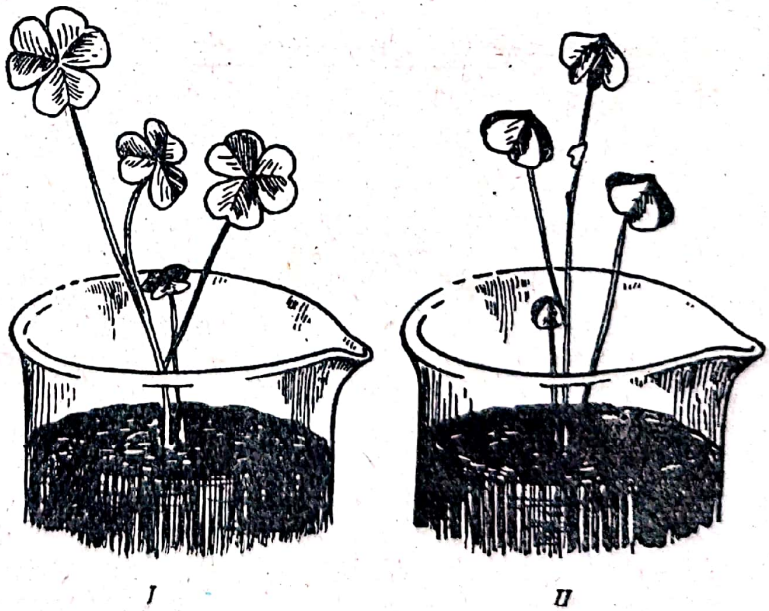


Fig. 222. Seismonastia la *Oxalis acetosella*: *I* — frunzele înainte de excitație; *II* — după excitație.

Experienţa nr. 275

TERMO- ŞI FOTONASTIA

Mişcările nastice provocate de modificările temperaturii (termonastice) se manifestă prin fenomenul cunoscut al închiderii la frig şi deschiderii la cald al unor flori de primăvară.

În două vase cu apă se pune cîte o floare de lalea *(Tulipa gesneriana)*; una se ţine la rece (8°C) şi se observă închiderea ei; cealaltă la cald (25°C); aceasta se deschide larg.

Se scot din pămînt primăvara şi se sădesc în ghivece flori de *Crocus vernus*. Unele se ţin la 5°C, altele la 20°C pentru observarea mişcării termonastice, ca la lalea.

Putem provoca închiderea inflorescenţei de bănuţi *(Bellis perennis)* dacă înfigem pedunculul într-un dop de plută pus deasupra unui vas cu apă rece (sub 10°C). Trecînd-o într-un pahar cu apă caldă (35°C), inflorescenţa se deschide. Mişcări termonastice prezintă şi capitulul de păpădie *(Taraxacum)*.

Curbarea termonastică rezultă dintr-o creştere inegală a feţelor opuse ale organului.

Mişcări nastice datorite modificării intensităţii luminii şi independente de direcţia ei (fotonastice) se pot observa la unele inflorescenţe şi flori. *Bellis perennis, Taraxacum, Portulaca* se deschid la lumină şi se închid la întuneric. Floarea de *Nicotiana* se deschide seara sau noaptea.

6. MIŞCĂRI NICTINASTICE

Experienţa nr. 276

POZIŢIA DE VEGHE ŞI DE SOMN

Mişcări nictinastice se observă la frunzele unor plante care au o poziţie diferită de la zi la noapte. Ele depind de un factor intern, dar sînt influenţate de oscilaţiile diurne de luminozitate şi temperatură.

Ne procurăm ghivece cu plante de *Mimosa pudica, Phaseolus multiflorus, Oxalis acetosella, Trifolium pratense* şi un vas cu apă în care punem ramuri tăiate de salcîm *(Robinia pseudacacia)*, acoperite cu un clopot de sticlă. Se ţin sub observaţie pentru a vedea poziţia deosebită a foliolelor ziua şi noaptea (fig. 223 pentru *Phaseolus*). Se examinează pulvinulele de la baza foliolelor şi a peţiolului, prin care se realizează aceste mişcări.

La frunzele de *Robinia* se poate urmări poziţia indusă de lumină a frunzelor. Dacă vasul cu ramurile se expune în plin soare, foliolele se ridică şi se alipesc prin feţele superioare. Cînd se trece în lumină

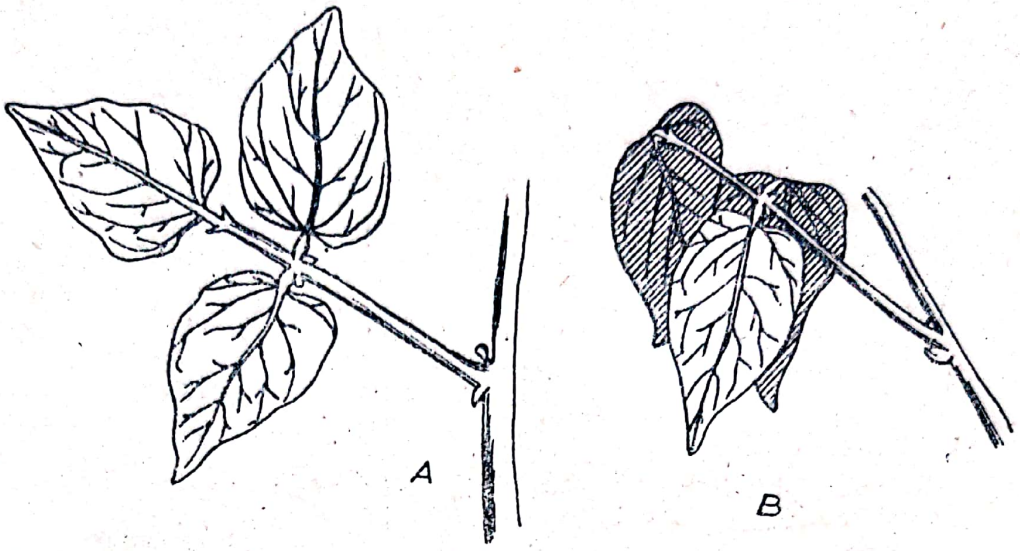


Fig. 223. Frunze de *Phaseolus multiflorus* :
A — în poziție de zi ; *B* — în poziție de noapte (după R. Kolkwitz).

difuză, foliolele stau orizontal (poziția de veghe), iar dacă se acoperă cu o cutie de carton care oprește lumina, foliolele iau poziția de somn, în decurs de 2 ore; se apleacă și se alipesc prin fețele inferioare, iar rahisul se lasă în jos.

7. NUTAȚII

Experiența nr. 277

MIȘCAREA DE NUTAȚIE A VÎRFULUI TULPINII

Vîrful tulpinilor și rădăcinilor oscilează în spațiu, descriind o mișcare mai mult sau mai puțin circulară, întrucît viteza maximă de creștere se deplasează mereu pe altă latură a organului (fig. 224). Aceste mișcări sînt deosebit de accentuate la plantele volubile, care descriu cu vîrful curbe neregulate în timpul creșterii.

Mișcările de nutație se pot urmări la tulpina unei plante tinere, care crește repede. Putem experimenta cu o plantă de fasole crescută în ghiveci, pînă cînd s-au dezvoltat complet frunzele primare. Tulpina se sprijină legîndu-se strîns de o baghetă, chiar sub frunze. Se poate lucra și cu plantă tînără de *Coleus*.

Se topește la flacără un fragment de tub de sticlă și se întinde într-un fir subțire. Un astfel de fir, lung de 10 cm, se lipește de vîrful tulpinii plantei cu parafină încălzită sau cu ceară de altoit. Un pătrățel de hîrtie albă, cu latura de 2 cm, se perforează la mijloc cu un ac, se trece prin el firul de sticlă, așa ca pătrățelul să alunece pînă la baza

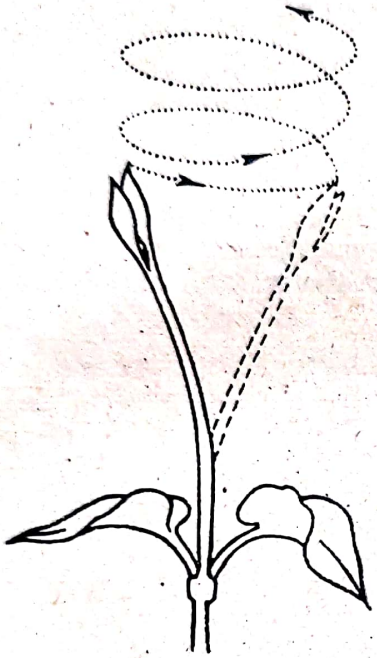


Fig. 224. Mişcări de nutaţie ale vîrfului tulpinii (după W. Rawald).

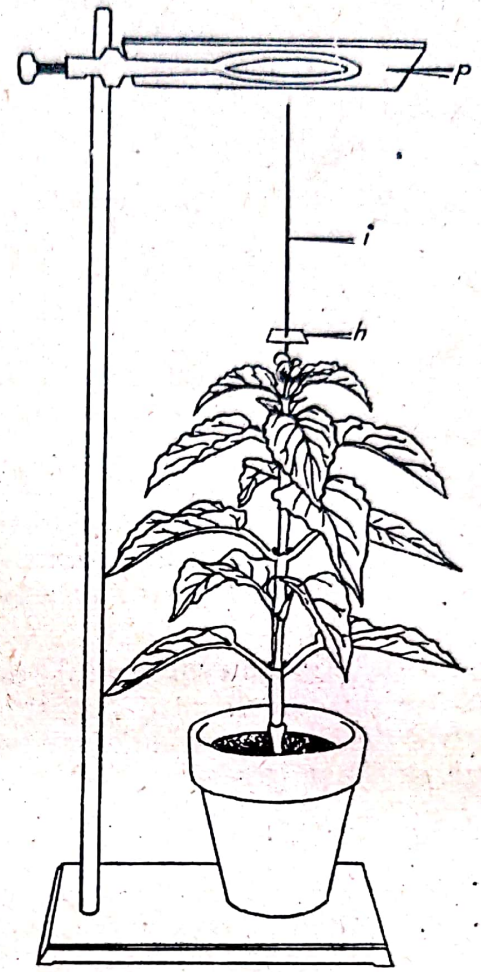


Fig. 225. Dispozitiv pentru studiul nutaţiilor : *p* — placă de sticlă; *i* — indicator; *h* — pătrat de hîrtie (dupăMeyer-Anderson).

firului. Firul, care va servi ca indicator, se înnegreşte cu tuş, pentru a-l face vizibil pe baza albă.

Se aşază orizontal deasupra plantei o placă de sticlă, susţinută de inelul unui stativ, aşa ca să fie foarte aproape de vîrful firului indicator (fig. 225).

Totul se aşază într-un loc cu lumină difuză, pentru a se evita curburile fototropice. Rezultatele vor fi mai exacte dacă întreaga lucrare se desfăşoară într-o cameră obscură, la temperatură constantă şi în lumina roşie, fototropic inactivă.

Se priveşte de sus prin placa de sticlă şi se notează pe ea, în dreptul vîrfului indicatorului, un punct cu tuş (sau cu creion gras). După 30 de minute, cînd se priveşte din nou, se constată că s-a schimbat poziţia vîrfului tulpinii. Se marchează cu al doilea punct poziţia cea nouă şi se repetă operaţia tot la 30 de minute. Apoi tragem linii legînd între ele semnele, în ordinea înscrierii. Se va obţine astfel imaginea drumului parcurs de vîrful tulpinii în mişcarea sa de nutaţie.

BIBLIOGRAFIE

1. Brauner, L., *Das kleine Pflanzenphysiologische Praktikum*, Jena, Fischer, 1929.
2. Brauner, L., Bukatsch, F., *Das kleine Pflanzenphysiologische Praktikum*, 6 Aufl., Jena, G. Fischer, 1961.
3. Bünning, E., *Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze*, Ed. III, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer. 1953.
4. Detmer, W., *Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum*, ed. IV, Jena, G. Fischer, 1912.
5. Guilliermond, A., Mangenot, G., *Précis de Biologie végétale*, ed. II, Paris, Masson, 1946.
6. Kolkwitz, R., *Pflanzenphysiologie, Versuche u. Beobachtungen an höheren u. niederen Pflanzen*, ed. III, Jena, G. Fischer, 1935.
7. Küster, E., *Kultur der Mikroorganismen*, Leipzig—Berlin, Teubner, 1907.
8. Lundegardh, H., *Pflanzenphysiologie*, Jena, G. Fischer, 1960.
9. Machlis, L., Torrey, J. G., *Plants in action. A laboratory Manual of Plant Physiology*, San Francisco, W. H. Freeman a Comp., 1959.
10. Maximov, N. A., *Fiziologia plantelor*, București, Edit. de stat, 1951.
11. Meyer, S. B., Anderson, D. D., Swanson, C. A., *Laboratory Plant Physiology*, III ed., New Jersey—Toronto—London, D. Van Nostrand Comp, Princetown, 1955.
12. Mevius, W., *Taschenbuch der Botanik*, Stuttgart, G. Thieme, 1961.
13. Moisescu, N., *Fiziologia vegetală experimentală*, București, Ed. „Minerva", 1907.
14. Molisch, H., *Botanische Versuche ohne Apparate*. Jena, G. Fischer, 1931.
15. Pop, E., Sălăgeanu, N., Péterfi, Șt., Chirilei, H., *Manual de fiziologia plantelor*, vol. II., București, Ed. de stat didactică și pedagogică, 1960.
16. Pringsheim, E., *Pflanzenphysiologische Übungen für Studierende u. Lehrer*, Leipzig, 1931.
17. Rawald, W., *Pflanze Umwelt u. Natur*, Leipzig—Jena, Urania, 1959.
18. Rawitscher, F., *Der Geotropismus der Pflanzen*, Jena, G. Fischer, 1932.
19. Ruge, U., *Übungen zur Wachstums- u. Entwicklungsphysiologie der Pflanze*, ed. 3, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer, 1951.
20. Ruhland, W., *Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. XVIIII, Physiologie der Bewegungen*, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer, 1959.
21. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. L., Krasnoselskaia, T. A. ș.a., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, Sovetskaia Nauka, 1953.
22. Small, J., *A textbook of Botany*, ed. III, London, Churchill, 1933.
23. Stocker, O., *Pflanzenphysiologische Übungen*, Jena, 1942.
24. Strugger, S., *Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze*, ed. II, Berlin—Göttingen—Heidelberg, Springer—Verlag, 1949.
25. Tetiurev, V. A., *Metodica experiențelor de fiziologia plantelor*, București, Ed. de stat didactică și pedagogică, 1953.
26. Thomas, Meirion, *Plant Physiology*, ed. 4, London, J. et A. Churchill Ltd., 1958.
27. Troll, W., *Taschenbuch der Botanik*, Stuttgart, G. Thieme, 1961.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL XI

ÎNMULȚIREA VEGETATIVĂ A PLANTELOR

de șef de lucrări, OCTAV BOLDOR
candidat în științe biologice

În afară de înmulțirea sexuată, unele plante au însușirea de a se înmulți pe cale vegetativă. Această înmulțire se bazează pe capacitatea diferitelor organe ale plantelor sau părți ale acestora de a reface celelalte organe care lipsesc, dînd naștere la o plantă nouă. În practică este foarte răspîndită înmulțirea plantelor prin butășire, prin marcotaj și prin altoire.

Experiența nr. 278

ÎNMULȚIREA PLANTELOR PRIN BUTAȘI

Butășirea se bazează pe însușirea pe care o au diferite organe sau fragmente de organe ale unor plante de a emite rădăcini și de a da naștere la o plantă nouă atunci cînd sînt puse în contact cu pămîntul. Pentru înmulțirea prin butășire se folosesc fragmente de rădăcini, tulpini, muguri, frunze sau fragmente de frunze, luîndu-se de la fiecare specie de plantă acele organe sau fragmente de organe care au capacitatea cea mai mare de a da naștere la o plantă nouă.

Factorii care determină înrădăcinarea butașilor sînt: solul, apa, aerul, lumina și căldura.

Solul pe care se plantează butașii trebuie să fie ușor, permeabil și bine aerisit. De aceea, se recomandă ca să se folosească nisip de rîu cu particule de 0,5—2 mm. Butașii care formează un sistem radicular puternic pot fi plantați într-un pămînt de cultură mai ușor. Plantarea butașilor se poate face în ghivece sau lădițe, care se țin în sere în timpul iernii și la începutul primăverii, sau în răsadnițe primăvara și toamna. Butașii plantelor lemnoase pot fi plantați în cîmp.

Butașii se țin în condiții de umiditate constantă, avînd grijă ca în primele zile de la plantare să se realizeze și o umiditate atmosferică mare, cu excepția butașilor plantelor suculente, care în astfel de condiții putrezesc ușor. Pentru aceasta se udă ori de cîte ori este nevoie și se acoperă ghivecele cu clopote de sticlă, iar lădițele cu geamuri.

Aerisirea este necesară pentru a înlesni formarea rădăcinilor și se face zilnic, ridicînd clopotele de sticlă sau geamurile în primele zile pentru un timp mai scurt, iar ulterior, pe măsura înrădăcinării, pentru intervale de timp mai lungi.

De o mare importanță este și reglarea cantității de lumină. În primele zile, butașii se țin în lumină difuză, așezîndu-i fie într-un loc mai umbrit, fie văruind geamurile cu care sînt acoperite lădițele sau răsadnițele.

În sfîrșit, pentru asigurarea unei bune înrădăcinări, se recomandă ca butașii să se țină la temperatura specifică. Această temperatură este cu 5—6°C mai mare decît cea obișnuită cerută de plantă. În general, butașii se țin la o temperatură de 18—25°C.

a) *Înmulțirea plantelor prin butași de rădăcină.* Însușirea de a se înmulți prin butași de rădăcină este caracteristică pentru multe plante, printre care păpădia, volbura, susaiul, zmeurul, murul, cireșul, prunul etc. Modul în care se pot obține plante din butașii de rădăcină ai acestora este descris la experiența nr. 248.

b) *Înmulțirea plantelor prin butași de tulpină fără frunze.* Experiențe de înmulțire prin butași de tulpină fără frunze se pot face cu ramuri de plop, salcie și lemn-cîinesc. Butașii se confecționează din lăstarii anuali ai acestor plante, care se recoltează în perioada de toamnă, după intrarea plantelor în stare de repaus, pînă primăvara înainte de începerea perioadei de vegetație. Din ramurile recoltate se taie bucăți de 18—22 cm, după ce în prealabil au fost înlăturate părțile nelemnificate și cele bolnave. Aceste fragmente de ramură se taie cu un cuțit bine ascuțit și curat, cu o mișcare rapidă, în așa fel ca tăietura de la baza fragmentului să fie dreaptă și în imediata apropiere a unui mugure, iar la capătul superior tăietura să fie oblică și cu ceva deasupra unui mugure bine dezvoltat. Butașii obținuți în acest fel se sădesc în ghivece sau direct în cîmp deschis.

Pentru aceasta se fac în prealabil în pămînt niște găuri verticale, cu o adîncime apropiată de lungimea butașilor, și după aceea se introduc butașii în ele. Se tasează apoi pămîntul, îndesîndu-l ușor cu mîinile, în așa fel ca mugurele superior să rămînă în urma tasării la nivelul solului.

c) *Înmulțirea plantelor prin butași de tulpină cu frunze.* O serie de plante, ca *Tradescantia, Pelargonium,* au însușirea de a forma rădăcini pe lăstari. Ele se pot înmulți din porțiuni de tulpină cu frunze, lungi de 10—12 cm și cu vîrf de creștere. Acești butași trebuie să aibă cel puțin 1—2 internoduri cu frunze și se taie la bază la o distanță de circa 1 mm sub nod, înlăturîndu-se totodată frunzele din această regiune pe o distanță de 2—3 cm. Butașii astfel obținuți se plantează în ghivece și se taie frunzele rămase astfel ca să se reducă suprafața lor la $^1/_3$—$^1/_2$, pentru a micșora cantitatea de apă pierdută prin transpirație. După plantare, butașii trebuie ținuți în condiții optime de umiditate, aerisire, temperatură, lumină, respectînd indicațiile menționate anterior.

Formarea rădăcinilor se poate observa ușor dacă se pun cîțiva butași într-un vas cu apă la lumină. Apa din vas trebuie schimbată zilnic, înlocuind-o cu apă care a fost lăsată în prealabil să ia temperatura camerei.

După cîtva timp se va putea observa apariția rădăcinilor adventive la capetele scufundate în apă ale butașilor. În momentul în care rădăcinile se dezvoltă suficient, acești butași pot fi plantați în ghivece cu pămînt, avînd grijă ca pămîntul să se taseze bine în jurul rădăcinilor, și li se dau toate îngrijirile de care au nevoie în ceea ce privește umiditatea, aerisirea, lumina și temperatura.

d) *Înmulțirea plantelor prin butași de muguri.* Acest procedeu de înmulțire se folosește în cazul cînd se urmărește obținerea unui număr mare de plante și se poate aplica la mușcată, hortensia, brumărele perene etc. De pe lăstarii acestor plante se scot mugurii cu un mic călcîi (lăsînd la baza lor o porțiune din lăstarul de pe care au fost luați) și se plantează oblic la o adîncime mică, astfel ca mugurele să fie acoperit cu pămînt pînă la jumătate. După plantare li se dau îngrijirile necesare.

Scanned with OKEN Scanner

e) *Înmulțirea plantelor prin butași de frunze.* O serie de plante, ca *Begonia rex, Begonia crednerii,* se pot înmulți prin butași de frunze, folosind în acest scop frunze întregi sau fragmente de frunze. Modul în care se pot obține plante noi din acești butași este descris la experiența nr. 248.

Experiența nr. 279

ÎNMULȚIREA PLANTELOR PRIN MARCOTAJ

Marcotajul se folosește pentru înmulțirea acelor specii de plante care se obțin greu din sămînță și care la înmulțirea prin butași nu dau rezultate sigure, deoarece butașii nu pot trăi din rezervele de hrană pînă la înrădăcinarea lor și putrezesc sau se usucă. Înmulțirea prin marcotaj se poate folosi la o serie de plante ca *Hedera,* viță-de-vie etc.

Acest mod de înmulțire se deosebește de butășire prin faptul că se provoacă înrădăcinarea la ramuri care sînt lăsate în contact cu planta-mamă pentru ca să poată fi hrănite.

Procedeul constă în acoperirea cu pămînt pe anumite porțiuni a ramurilor lungi și flexibile ale acestor plante, avînd grijă ca părțile de ramură care nu sînt îngropate să aibă 2—3 muguri. Părțile îngropate în pămînt se fixează cu niște cîrlige (fig. 226). Marcotajul se face înainte de începerea sezonului de vegetație, folosind ramuri de 1—3 ani. Toamna sau în primăvara următoare, după ce porțiunile îngropate în pămînt ale ramurilor au emis rădăcini, ramurile se dezgroapă și se separă de planta-mamă porțiunile înrădăcinate.

Plantele obținute în acest fel se plantează.

Experiența nr. 280

ÎNMULȚIREA PLANTELOR PRIN ALTOIRE

Altoirea este un mijloc de înmulțire vegetativă a plantelor, larg răspîndit în pomicultură. Acest procedeu constă în transplantarea unui fragment de ramură sau mugure al unei plante, numit altoi, pe tulpina sau rădăcina unei alte plante, care se numește portaltoi. În pomicultură, portaltoiul care se folosește este de obicei sălbatic, iar altoiul provine de la un soi nobil.

Fig. 226. Înmulțirea plantelor prin marcotaj (după St. V. Purcelean și T. D. Cocalcu).

Altoirile se fac de obicei primăvara, înainte de începerea perioadei de vegetație. Se cunosc mai multe procedee de altoire, printre care altoirea prin copulație, altoirea în despicătură, altoirea în mugure sau ochi detașat. Aceste procedee se pot exersa în laborator pe ramuri detașate.

a) *Altoirea în copulație.* Se folosește în cazurile cînd altoiul și portaltoiul au aceeași grosime. Altoiul care este un fragment de ramură se taie în porțiunea bazală oblic, în așa fel ca lungimea tăieturii să fie de 2—2,5 ori mai mare decît grosimea lui. Portaltoiul se taie în același mod la porțiunea superioară. După aceea se aplică pe el altoiul, în așa fel încît zonele cambiale să coincidă (fig. 227). Se leagă strîns porțiunea respectivă cu rafie sau liber de tei și se unge cu ceară de altoit. Legătura se scoate după ce altoiul se prinde și începe să crească.

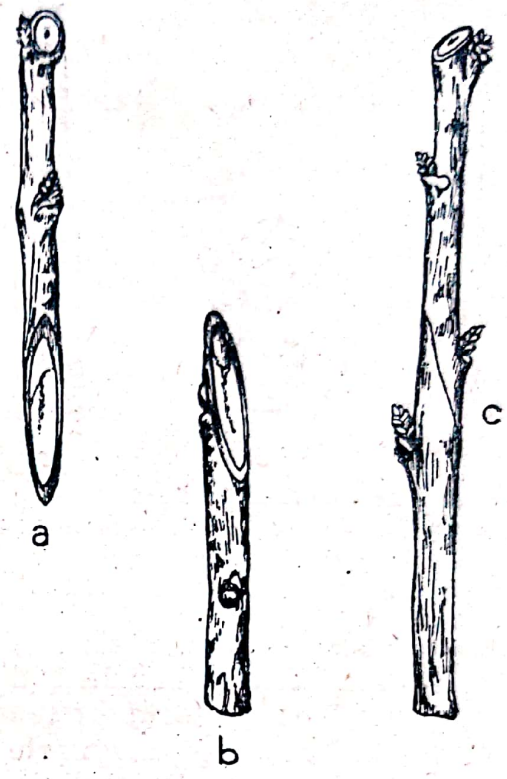


Fig. 227. Altoirea în copulație:
a — altoi; *b* — portaltoi; *c* — fixarea altoiului pe portaltoi (după N. Gaucher).

O ceară de altoit care dă rezultate bune se poate prepara topind într-un vas mai mare 800 g de colofoniu și adăugînd după topirea lui 100 g de ceară de albine; după topirea acesteia se mai adaugă 60 g de seu și 40 g de ocru sau cenușă. Această ceară se încălzește înainte de întrebuințare. Ceara de altoit favorizează prinderea altoiului prin faptul că împiedică pătrunderea aerului și a precipitațiilor în porțiunile rănite.

b) *Altoirea în despicătură.* Se folosește în cazurile cînd portaltoiul are o grosime mai mare decît altoiul. Portaltoiul se taie oblic și se despică în dreptul porțiunii mai înalte a suprafeței de secțiune. Altoiul, care este un fragment de ramură, se taie în pană prin două tăieturi opuse, lungi de 3—5 cm, care încep de lîngă un mugure. Porțiunea tăiată în pană a altoiului se introduce în despicătura făcută la portaltoi, avînd grijă ca zonele generatoare să vină una în dreptul celeilalte (fig. 228). După aceea se leagă cu rafie sau cu liber de tei și se unge porțiunea respectivă cu ceară de altoit.

c) *Altoirea cu mugure sau ochi detașat.* Procedeul constă în folosirea ca altoi a unui mugure, care se introduce sub scoarța portaltoiului (fig. 229). Se face pe ramura-altoi, cu briceagul de altoit, o crestătură perpendiculară pe ramură la o distanță de 1—1,5 cm sub mugure. După aceea se înfige lama briceagului în ramură la o distanță de 1—1,5 cm deasupra mugurelui și, înclinînd lama aproape orizontal, se face o tăietură între lemn și coajă pînă la secțiunea care a fost făcută sub mugure, avînd grijă ca în dreptul mugurelui să se mențină o porțiune mică de lemn. După aceea se curăță de praf portaltoiul în porțiunea unde ur-

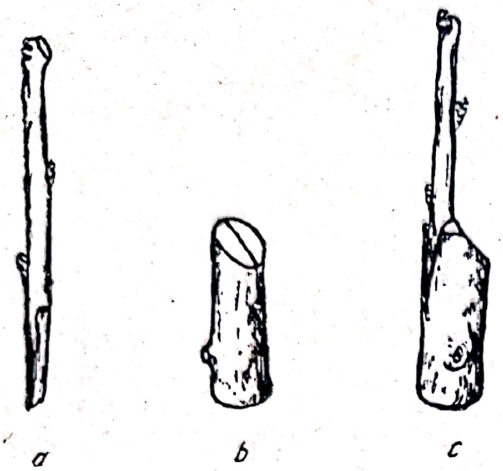


Fig. 228. Altoirea în despicătură :
a — altoi; *b* — portaltoi; *c* — fixarea altoiului pe portaltoi (după N. Gaucher).

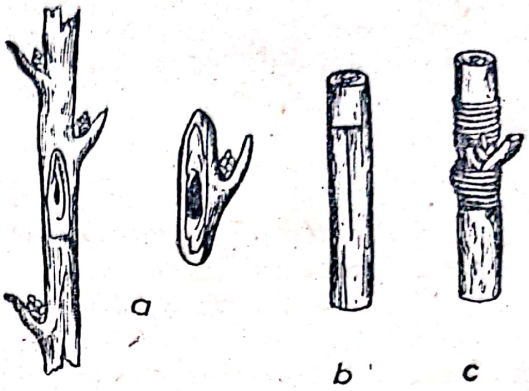


Fig. 229. Altoirea în mugure :
a — pregătirea altoiului; *b* — pregătirea portaltoiului; *c* — altoi legat (după St.V. Purcelean, T. D. Cocalcu).

mează să se execute altoirea și se face în coajă o incizie în formă de T. La început se face incizia transversală și apoi cea longitudinală. Se îndepărtează cu ajutorul briceagului marginile verticale ale inciziei, se introduce sub coajă mugurele și după aceea se apasă cu degetele pe porțiunile de scoarță dezlipite, pentru ca mugurele să se lipească de lemnul portaltoiului.

Imediat după executarea acestor operații se leagă porțiunea respectivă, începînd de la tăietura transversală spre porțiunea de bază a inciziei în formă de T.

BIBLIOGRAFIE

1. Constantinescu, N., *Pomicultura*, București, Editura agro-silvică de stat, 1957.
2. Maximov, N. A., *Fiziologia plantelor*, București, Editura de stat pentru literatură științifică, 1951.
3. Miliţiu, A., Ştefan, L., Sadofsky, E., *Floricultura*, București, Editura agro-silvică, 1962.
4. Purcelean, Șt. V., Cocalcu, T. D., *Cultura speciilor lemnoase ornamentale*, București, Editura agro-silvică, 1961.
5. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., Krasnoselskaia, T. A., Miller, M. S., Anikiev, V. V., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, Sovetskaia Nauka, 1953.
6. Tetiurev, V. A., *Metodica experienţelor la fiziologia plantelor*, București, Editura de stat didactică și pedagogică, 1953.

ANEXA I

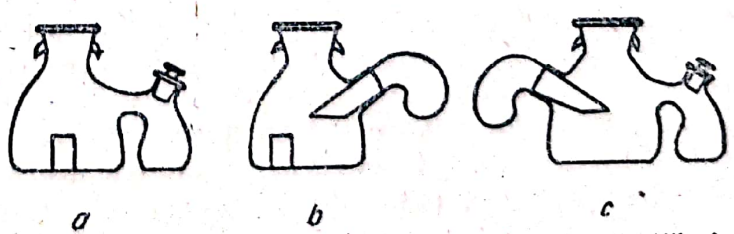
INSTALAŢIA WARBURG

de lector NICOLAE POPOVICI şi şef de lucrări OCTAV BOLDOR candidat în ştiinţe biologice.

Instalaţia Warburg se utilizează în mod curent în fiziologie pentru determinarea fotosintezei, a respiraţiei şi a unor procese enzimatice care se desfăşoară cu producere sau consum de gaze. Metoda de determinare este manometrică, deoarece aprecierea cantităţilor de gaze produse sau consumate se face prin măsurarea variaţiei de presiune din spaţiul închis în care se desfăşoară procesul urmărit, în condiţii de volum şi temperatură constante.

Descrierea instalaţiei. Instalaţia Warburg se compune din două părţi principale: vasele de reacţie, împreună cu manometrele care se ataşează la ele, şi partea mecanică. Vasele de reacţie şi manometrele reprezintă partea cea mai importantă a instalaţiei, deoarece servesc în mod direct la măsurarea cantităţilor de gaze produse sau consumate. Partea mecanică este alcătuită dintr-o serie de dispozitive, care, pe de o parte, au rolul de a menţine în cursul determinărilor temperatura la o valoare constantă, iar pe de altă parte, asigură agitarea vaselor de reacţie, pentru a se realiza un echilibru de absorbţie între faza gazoasă şi faza lichidă din sistemul închis.

Vasele de reacţie au o capacitate de aproximativ 15 ml şi în general au forma unui balon Erlenmeyer. În interior, sudat de fundul acestora, se găseşte un păhărel central cu o capacitate de circa 1 ml, iar lateral prezintă un diverticul, care are un volum de aproximativ 3 ml şi este prevăzut cu un dop de sticlă şlefuit (fig. 230, *a*). În păhărelul central, în cazurile cînd se urmăreşte captarea bioxidului de carbon produs în timpul determinărilor, se introduce o soluţie apoasă de KOH sau NaOH 10—20%, iar în diverticulul lateral se pun substanţele a căror acţiune asupra sistemului de reacţie urmează să fie studiată. Construcţia vaselor permite deci să se urmărească acţiunea diferitelor substanţe, introduse în prealabil în diverticul, fără a se întrerupe determinările. Vasele de reacţie pot avea, în funcţie de scopul urmărit, forme diferite. La unele vase, diverticulul lateral, în formă de retortă, se fixează de vas prin intermediul unui şlif (fig. 230, *b*), iar altele pot fi pre-



a *b* *c*

Fig. 230. Diferite tipuri de vase de reacţie (explicaţiile în text).

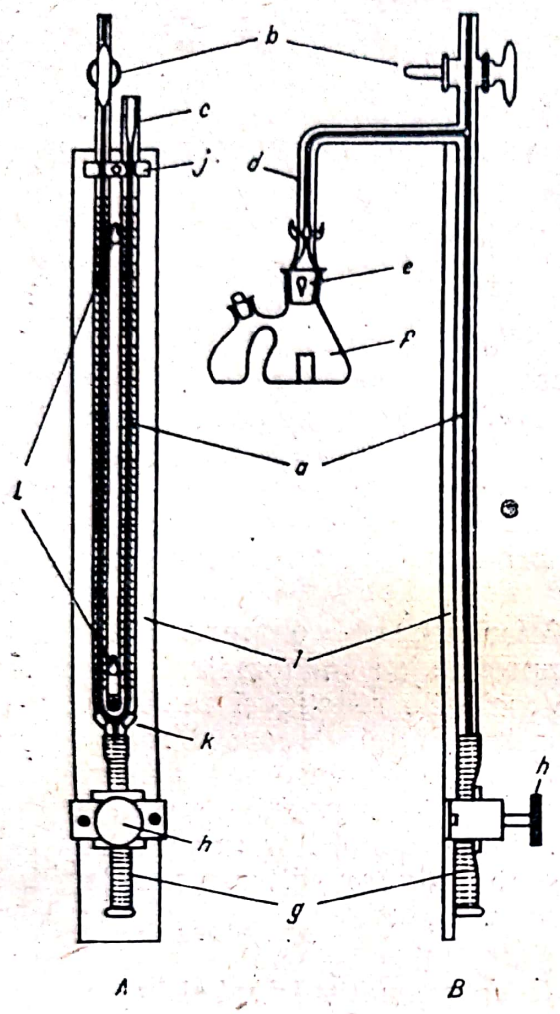


Fig. 231. Schema manometrelor :

A — manometrul văzut din față; *B* — manometrul văzut lateral: *a* — capilarul manometrului; *b* — robinet; *c* — porțiunea dilatată în formă de pîlnie; *d* — ramificația laterală a manometrului; *e* — conul de racordare; *f* — vas de reacție; *g* — rezervorul cu lichid manometric; *h* — clema cu șurub a rezervorului cu lichid manometric; *i* — placa metalică pe care se fixează manometrul; *j* — clema de fixare a manometrului pe placa metalică; *k* — suport metalic pentru sprijinirea manometrului pe placa metalică; *l* — orificiile de pe placa metalică pentru fixarea manometrelor la cadrul mobil al instalației.

văzute cu două diverticule, dintre care unul este sudat, iar celălalt se fixează printr-un șlif (fig. 230, *c*). Indiferent de forma lor, toate vasele de reacție au gîtul șlefuit, fapt ce permite atașarea lor în condiții de etanșare perfectă la manometre.

Manometrele sînt confecționate din tuburi de sticlă cu pereți groși, cu un diametru interior de circa 1 mm, și au o formă asemănătoare cu litera U (fig. 231). Ambele brațe ale manometrului sînt gradate de jos în sus, din milimetru în milimetru, de la 0—300 mm. Brațul drept al manometrului este deschis și se termină cu o mică dilatare în formă de pîlnie. Brațul stîng este prevăzut cu un robinet cu două căi, care servește la închiderea brațului în timpul determinărilor, pentru a se realiza sistemul închis. Una dintre căile acestui robinet se prelungește cu un tub de sticlă, care servește la umplerea vasului de reacție cu diferite amestecuri de gaze, în cazul cînd metoda care urmează să fie folosită pretinde acest lucru. Brațul stîng este prevăzut, de asemenea, în porțiunea cuprinsă între robinet și diviziunea 300 mm, cu o ramificație laterală, care pornește orizontal și este curbată apoi în jos în unghi drept. Această ramificație laterală se termină cu o porțiune dilatată, șlefuită la exterior, care reprezintă conul de racordare al manometrului cu vasul de reacție. Deasupra conului de racordare și pe fața exterioară a gîtului vasului de reacție se găsesc patru, respectiv două gheare de sticlă, care servesc ca suporturi pentru inelele de cauciuc sau arcurile în spirală cu care se consolidează fixarea vasului de reacție la manometru. În porțiunea inferioară, manometrul are o ramificație scurtă, dintr-un tub de sticlă care este deschis la capăt și servește pentru atașarea la manometru a rezervorului cu lichid manometric. Acest rezervor este format dintr-un tub de cauciuc, lung de circa 10 cm, astupat la capătul inferior cu o baghetă de sticlă ale cărei capete au fost rotunjite în prealabil prin topire la

flacără. Pentru rezervor se recomandă folosirea unui tub de cauciuc elastic, care să aibă un diametru interior corespunzător cu diametrul exterior al ramificației de sticlă din partea inferioară a manometrului. Manometrul se fixează pe o placă metalică, cu ajutorul unei cleme situate la partea superioară a plăcii și al unui suport care se găsește la partea ei inferioară. La extremitatea inferioară a plăcii pe care se fixează manometrul se găsește o clemă cu șurub prevăzută cu o plăcuță de metal, care se sprijină pe tubul de cauciuc al rezervorului cu lichid manometric. Prin învîrtirea acestei cleme cu șurub se realizează o apăsare mai puternică sau mai slabă asupra tubului de cauciuc, fapt ce permite deplasarea lichidului manometric în sensul dorit în cele două brațe ale manometrului. Placa metalică prezintă, de asemenea, două orificii care servesc la fixarea ei împreună cu manometrul și cu vasul de reacție atașat la acesta, pe cadrul mobil al dispozitivului de agitare a vaselor de reacție, prin intermediul șuruburilor cu care este prevăzut cadrul mobil.

Partea mecanică a instalației servește la menținerea constantă a temperaturii în timpul determinărilor și la agitarea vaselor de reacție.

Dispozitivul care asigură menținerea temperaturii la o valoare constantă este alcătuit dintr-o baie termostat, reprezentată printr-un vas de sticlă paralelipipedic, cu o capacitate de aproximativ 15 l, care se umple cu apă (fig. 232). Apa din acest termostat este încălzită printr-un sistem electric cu ajutorul unui încălzitor care se găsește în interiorul unui tub de sticlă așezat pe fundul vasului. Reglarea temperaturii băii se face cu un termometru de contact fixat pe o ramă metalică deasupra băii. Acesta are la capătul său superior un magnet prin rotirea căruia se aduce indexul de pe scara de sus a termometrului în dreptul temperaturii dorite în timpul

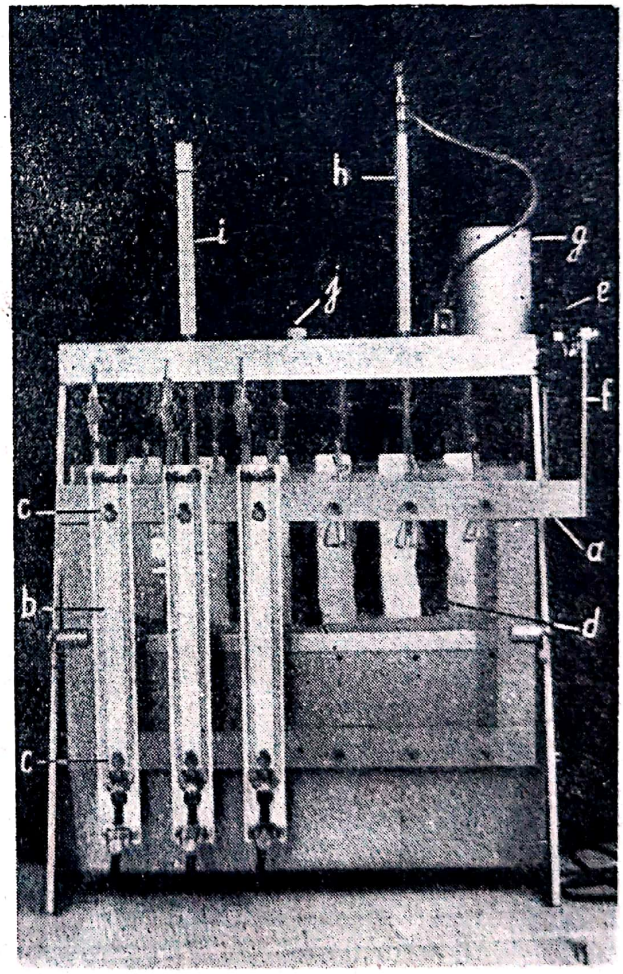


Fig. 232. Instalația Warburg:
a — cadrul mobil; *b* — manometre; *c* — șuruburile de fixare ale manometrelor la cadrul mobil; *d* — baia termostat; *e* — discul rotativ; *f* — brațul de legătură al cadrului mobil la discul rotativ; *g* — motorașul electric; *h* — termometrul de contact; *i* — termometrul de control; *j* — lăcaș pentru fixarea agitatorului.

Scanned with OKEN Scanner

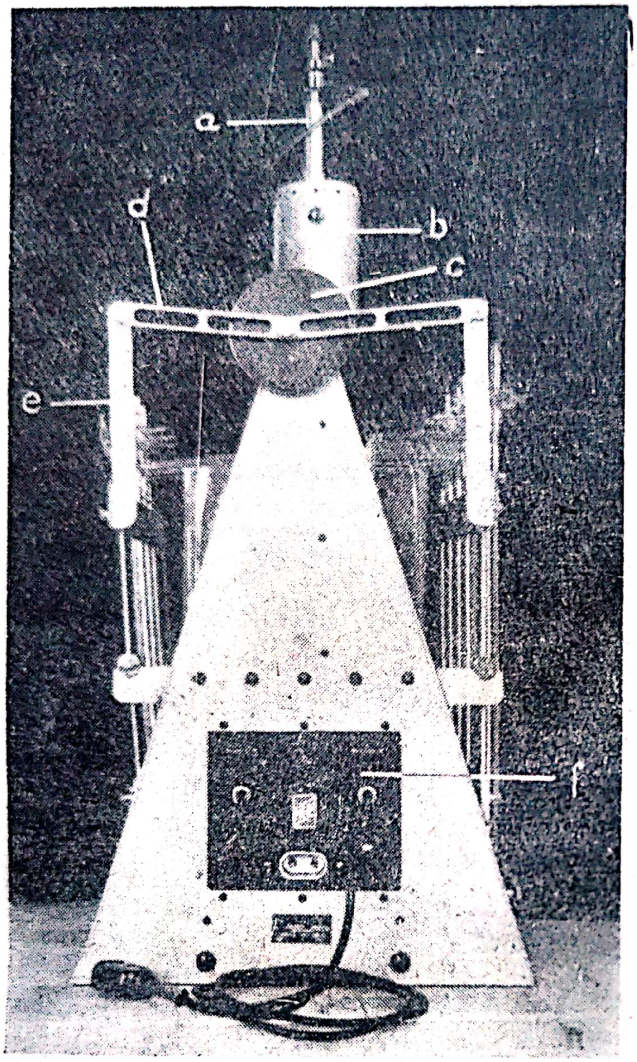


Fig. 233. Instalaţia Warburg văzută dinspre tabloul de comandă:

a — termometrul de contact; *b* — motoraşul electric; *c* — discul rotativ cu discul situat excentric; *d* — braţele de legătură ale cadrelor mobile la discul rotativ; *e* — cadrele mobile cu manometrele fixate pe ele; *f* — tabloul de comandă al instalaţiei.

determinărilor. După stabilirea temperaturii de lucru, aceasta se controlează cu ajutorul unui alt termometru, fixat pe aceeaşi ramă metalică. În cazul cînd nu se obţine de la început cu exactitate temperatura dorită, se face un nou reglaj al termometrului de contact şi se repetă această operaţie pînă în momentul cînd apa din baia termostat va lua exact temperatura propusă, care se verifică la termometrul de control. Pentru asigurarea unei temperaturi perfect uniforme a apei din baie, aceasta este omogenizată de către un agitator de sticlă, fixat pe rama metalică de deasupra băii, între termometrul de contact şi cel de control. Agitatorul este pus în mişcare cu ajutorul unui motoraş electric, care se găseşte tot pe rama metalică de deasupra băii de apă.

Dispozitivul care asigură agitarea vaselor de reacţie este format din două cadre metalice mobile, aşezate pe cele două părţi ale băii termostat, paralel cu laturile lungi ale acesteia. Pe fiecare cadru se pot fixa cîte şase manometre. Cele două cadre mobile sînt legate prin intermediul a două braţe metalice de discul rotativ (fig. 233) pus în mişcare tot de motoraşul electric care învîrteşte agitatorul din baia de apă. Aceste braţe sînt cuplate la discul rotativ al motoraşului prin intermediul unui disc de dimensiuni mai mici, situat excentric, care poate fi fixat cu ajutorul unui şurub în diferite poziţii pe discul rotativ. Discul situat excentric serveşte la stabilirea amplitudinii oscilaţiilor celor două cadre mobile. În cazul cînd dorim ca oscilaţiile să fie mari, discul de reglare a amplitudinii oscilaţiilor se fixează în şurubul de la discul rotativ, în aşa fel ca punctul de cuplare a braţelor care asigură mişcarea cadrelor mobile să fie cît mai aproape de marginea discului rotativ, iar în caz contrar se procedează invers. Cifrele din dreptul orificiilor care servesc la fixarea discului de reglare a amplitudinii oscila-

țiilor indică mărimea amplitudinii de agitare a cadrelor mobile, cifrele mari corespunzînd la amplitudini mari.

Atît dispozitivul care asigură menținerea temperaturii băii termostat cît și cel care servește la agitarea vaselor de reacție sînt puse în mișcare de la un tablou de comandă al instalației, așezat pe una dintre laturile părții mecanice a acesteia. Pe acest tablou de comandă se găsesc două comutatoare, dintre care unul servește la punerea în funcțiune a încălzitorului electric, iar celălalt la punerea în funcțiune a motorașului care învîrtește agitatorul din baia de apă și discul care asigură mișcarea cadrelor mobile. De asemenea pe tabloul de comandă se mai găsesc un tambur prin rotirea căruia se reglează viteza motorașului și un bec care servește la controlarea modului în care funcționează sistemul de încălzire a băii termostat. În cazul în care baia a atins temperatura stabilită încălzitorul electric nu mai funcționează și becul se stinge, iar în momentul cînd temperatura băii scade sub aceea pentru care a fost reglată, încălzitorul electric intră automat în funcțiune și becul se reaprinde.

Pregătirea instalației pentru determinări. Înainte de a se trece la efectuarea determinărilor este necesar să se stabilească valoarea constantei k pentru fiecare garnitură vas de reacție-manometru.

În prealabil este necesară curățirea minuțioasă a vaselor de reacție și a manometrelor. În acest scop se scot rezervoarele de cauciuc de la manometre, se astupă tubul de sticlă de la partea inferioară a manometrelor și se umplu apoi manometrele și vasele de reacție cu amestec sulfocromic. Acesta se prepară amestecînd o soluție de bicromat de potasiu 30% cu acid sulfuric concentrat ($d = 1{,}84$) în proporție de 1 : 3. După 24—48 ore se spală foarte bine vasele și manometrele cu apă de conductă și apoi cu apă distilată și se usucă într-un termostat. Cînd vasele și manometrele s-au uscat, se lasă să se răcească la temperatura camerei și se trece apoi la determinarea constantei lor.

Cantitatea de gaz absorbit sau degajat într-un proces care se urmărește în instalația Warburg determină o schimbare de presiune în volumul închis, cuprins în vasul de reacție și tubul capilar al manometrului pînă la suprafața lichidului manometric. Pe baza legilor gazelor, cunoscute din fizică, valoarea acestei schimbări de presiune depinde de cantitatea de gaz absorbit sau degajat, de volumul gazos în care decurge procesul de schimb și de temperatură. Avînd în vedere aceste valori și, de asemenea, înălțimea coloanei de lichid manometric care echilibrează presiunea de o atmosferă (P_0), se calculează constanta garniturii vas-manometru. Constanta reprezintă cantitatea de gaz absorbit sau degajat care în anumite condiții de volum și temperatură provoacă o schimbare a presiunii în garnitură, egală cu 1 mm. Cantitatea de gaz absorbit sau degajat într-o reacție se află înmulțind presiunea (citită în milimetri la manometru) realizată la sfîrșitul reacției cu constanta.

Constanta garniturii vas-manometru se calculează după formula:

$$k = \frac{(V - V_1)\frac{273}{T} + V_1 \alpha}{P_0},$$

în care:

k este o constantă;

V — volumul vasului de reacție + volumul ramificației laterale care poartă vasul de reacție + volumul diviziunilor pînă la suprafața lichidului manometric în ramura dinspre vas a manometrului;

V_1 — volumul materialelor introduse în vasul de reacție (lichide, plante etc.);

α — coeficientul de solubilitate al gazului urmărit în lichidele introduse în vasul de reacție;

P_0 — înălțimea coloanei de lichid manometric care echilibrează presiunea de 1 atmosferă; cînd se lucrează cu lichid Brodie ($d = 1{,}033$), înălțimea acestei coloane este de 10 000 mm;

T — temperatura, exprimată în grade Kelvin (273 + temperatura de lucru). Valoarea $\frac{273}{T}$ este un factor de corecție, care face ca volumul de gaz calculat să fie exprimat la 0°C.

Cunoscînd volumul vasului de reacție, volumul ramificației care poartă vasul de reacție pînă la diviziunea cea mai mare a brațului stîng al manometrului (diviziunea 300) și volumul unei diviziuni de pe manometru, se poate calcula constanta pentru orice condiții de lucru. Aflarea acestor valori se face prin operația de calibrare (etalonare) a vaselor. Fiecare vas se calibrează împreună cu un manometru cu care va forma o garnitură, care se numerotează și se folosește numai în această îmbinare.

Cel mai întrebuințat procedeu pentru calibrare este umplerea volumului care trebuie aflat cu mercur; se află apoi, din formula $V = \frac{G}{D}$, volumul spațiului cercetat. În această formulă, V reprezintă volumul, G — greutatea, D — densitatea mercurului.

Practic se procedează astfel: vasul de reacție, spălat și perfect urcat, se pune într-un cristalizor mare și se umple pînă la refuz cu mercur curat; se introduce apoi dopul de la diverticul la locul lui și conul de racordare în gura vasului. În acest timp, o parte din mercur se varsă în cristalizor, iar o parte urcă în ramificația laterală (brațul care poartă vasul) a manometrului. Se va proceda în așa fel ca mercurul să urce numai pînă în porțiunea verticală a ramificației. Se marchează cu tuș punctul pînă unde s-a urcat mercurul, apoi se ridică manometrul cu atenție ca tot mercurul din ramificația laterală să cadă în vasul de reacție. Se cîntărește la o balanță tehnică de precizie întîi vasul de reacție cu mercur, apoi vasul gol și aplicînd formula menționată se

află volumul vasului și al ramificației laterale pînă la nivelul la care s-a urcat mercurul. Să-l notăm convențional cu v_1. După aceea se introduce în manometrul ținut în poziție răsturnată și cu robinetul închis o cantitate de mercur în așa fel ca să umple ramificația laterală de la semnul făcut cu tuș mai înainte pînă la robinetul din partea de sus a brațului stîng al manometrului și să umple și un număr din diviziunile acestui braț al manometrului, care se notează cu precizie. Mercurul se colectează apoi într-o fiolă de cîntărire, se cîntărește la balanța analitică și i se află volumul. Să-l notăm cu v_2. În sfîrșit, se află volumul unei diviziuni a tubului manometric. Pentru aceasta se introduce în brațul stîng al manometrului o coloană de mercur, care să acopere 40—80 de diviziuni, și se plimbă prin tubul manometric, notîndu-se în 5—6 poziții numărul de diviziuni pe care-l ocupă (tubul capilar al manometrului nu este absolut uniform ca diametru și din această cauză numărul de diviziuni ocupate de coloana de mercur poate fi diferit). După aceasta se cîntărește mercurul, i se află volumul și acesta se împarte la numărul mediu de diviziuni pe care le ocupa în cele 5—6 poziții notate. Astfel se află volumul mediu al unei diviziuni de pe tubul manometric, pe care îl notăm convențional cu v_3.

La o garnitură vas-manometru calibrată, trebuie cunoscute două volume: 1) volumul vasului de reacție + volumul ramificației laterale și al brațului purtător de vas pînă la cea mai mare diviziune a manometrului (300 mm) și 2) volumul unei diviziuni de pe brațul purtător de vas al manometrului. Din datele obținute în modul descris, volumul vasului de reacție + ramificația laterală și brațul purtător de vas (pînă la cea mai mare diviziune a manometrului) se calculează după formula $v_1 + v_2 - n\,v_3$, în care n este numărul de diviziuni din gradația manometrului care s-au inclus în calcularea lui v_2.

Volumul vasului de reacție + ramificația laterală și brațul purtător de vas pînă la diviziunea cea mai mare se exprimă în centimetri cubi (cu trei zecimale), iar volumul unei diviziuni de pe tubul manometric, în milimetri cubi (cu trei zecimale). Valoarea volumului unei diviziuni de pe brațul purtător de vas al manometrului nu influențează diferența de presiune realizată, ci trebuie cunoscută în vederea calculării volumului total gazos în care are loc schimbul de gaze cercetat.

După calibrarea garniturilor vas-manometru se atașează la fiecare manometru rezervorul cu lichid manometric. Ca lichid manometric se folosește lichidul Brodie, care se prepară dizolvînd în apă distilată într-un balon cotat de 1 l 40 g de clorură de sodiu și 10 g de taurocolat de sodiu. După dizolvare se adaugă cîteva picături de soluție alcoolică saturată de timol, se colorează soluția cu puțină eozină și se completează cu apă distilată pînă la semn. Se umplu tuburile de cauciuc, care servesc ca rezervoare de lichid manometric cu soluția preparată, și se atașează la ramificația de la partea inferioară a manometrelor. În cazul cînd coloana de lichid Brodie din manometru se rupe, se apasă cu degetele pe tubul de cauciuc și apoi se slăbește încet apăsarea, repetînd acest procedeu pînă cînd se elimină toate bulele de aer din manometru.

Scanned with OKEN Scanner

În tuburile de cauciuc trebuie să se pună atît lichid Brodie, încît prin manevrarea clemei cu șurub de la rezervor lichidul manometric să poată fi deplasat în brațele manometrelor de la diviziunea zero pînă la 300. În cazul cînd cantitatea de lichid nu ne permite acest lucru, se adaugă sau se scoate, după caz, lichid manometric, prin ramura dreaptă deschisă a manometrului.

Termobarometrul. Suprafața lichidului manometric din brațul deschis (fără robinet) al manometrului vine în contact direct cu atmosfera. Datorită acestui fapt, o variație mică a presiunii atmosferice poate influența indicațiile manometrului și prin aceasta exactitatea datelor determinării. Aceleași erori nedorite le poate aduce și o variație oricît de mică a temperaturii băii termostat, în care se găsesc vasele de reacție.

Pentru evitarea acestor erori nedorite, la fiecare determinare se folosește și o garnitură vas-manometru, în care se pun toate substanțele sau reactivii introduși în garniturile de experiență, în afară de materialul biologic. Acest manometru ne va indica toate variațiile de presiune nelegate de activitatea fiziologică a materialului cercetat. Ca termobarometru se poate folosi un manometru necalibrat, deoarece variațiile sale sînt foarte mici (circa 10 mm), iar variația indicată de acesta se aplică sub formă de corecție tuturor manometrelor cu care se lucrează.

Pentru exemplificarea modului de lucru cu instalația Warburg, prezentăm în continuare procedeul de determinare a intensității activității catalazei și peroxidazei.

Reacțiile și reactivii sînt aceiași ca și în cazul determinării gazometrice, expuse în cadrul experienței nr. 210, *a* și *b*. Se face un mojarat în soluție de tampon fosfatic (reactivul 65), care să conțină 10 mg de material proaspăt în 1 ml de suspensie finală. Se folosește apă oxigenată mai diluată: 0,1% (reactivul 12 *b*) pentru catalază și 0,2% (reactivul 12 *b*) pentru amestecul în părți egale cu pirogalol 2,5% la peroxidază.

În vasul de reacție, în jurul păhărelului central, se introduc 1 ml suspensie + 3 ml apă distilată, iar în diverticulul lateral se introduc 0,75 ml H_2O_2 0,1% sau amestec în părți egale de soluție de pirogalol 2,5% și H_2O_2 0,2%. Se atașează vasul la manometrul cu robinetul deschis și se introduce în baia termostat, unde se ține 10 minute pentru echilibrare termică. În acest timp se poate fixa (cu ajutorul clemei cu șurub din dreptul rezervorului cu lichid manometric) nivelul lichidului manometric la o marcă inițială, care, în acest caz (cînd se urmărește degajarea unui gaz), este bine să fie cît mai jos, pentru a putea măsura o diferență mare de presiune în eventualitatea unei reacții intense. De exemplu, să considerăm ca marcă inițială diviziunea 20. După trecerea celor 10 minute se închide robinetul manometrului, se scoate cadrul metalic cu manometrele fixate pe el și se înclină pe spate pînă ce reactivii din diverticul se varsă peste suspensia din vasul de reacție. În acest moment se pune în funcțiune un cronometru și se așază la loc cadrul metalic cu manometrele. Aceste operații se execută foarte repede.

pentru ca diferențele de temperatură să nu deranjeze echilibrarea termică realizată anterior.

Urmărind manometrele, se va observa că lichidul manometric coboară în brațul purtător de vas al manometrelor și urcă în brațul opus. Cu ajutorul clemei cu șurub din dreptul rezervorului cu lichid manometric se menține constant nivelul lichidului manometric în dreptul mărcii alese pe brațul purtător de vas (această operație se face ori de cîte ori se produce o deplasare mai mare în jos a coloanei de lichid). După intervalul de timp corespunzător pentru determinare (3 minute pentru catalază, 15 minute pentru peroxidază), se fac citirile, aducîndu-se nivelul lichidului manometric la marca inițială în brațul purtător de vas al manometrului și citind înălțimea coloanei de lichid pe brațul opus (fără robinet).

Să considerăm un exemplu în care, în timpul determinării catalazei, lichidul manometric s-a urcat în brațul deschis (fără robinet) al manometrului la diviziunea 172 mm, iar la termobarometru a coborît la diviziunea 18.

În acest caz, devierea reală $k = 172 - 18 = 154$.

Calcularea constantei se face după formula:

$$k = \frac{(V - V_1)\frac{273}{T} + V_1\alpha}{P_0},$$

în care:

V este volumul vasului de reacție + volumul ramificației laterale + + volumul brațului purtător de vas pînă la diviziunea 300 mm + volumul a 280 diviziuni (pînă la marca 20 sînt 300—20 = 280 diviziuni) de pe brațul purtător de vas; în cazul nostru, dacă volumul vasului de reacție, al ramificației laterale și al brațului purtător de vas al manometrului pînă la diviziunea 300 = 18,252 cm^3, iar volumul unei diviziuni de pe manometru = 0.982 mm^3, atunci V = 18,252 + 0,275 (volumul a 280 diviziuni) = 18,527 cm^3;

V_1 — volumul materialelor introduse în vasul de reacție (1 ml suspensie, 3 ml apă distilată, 0,75 ml H_2O_2) = 1 + 3 + 0,75 = = 4,75 cm^3; dacă determinarea s-a făcut la 30°C, atunci raportul $\frac{273}{T}$ va fi $\frac{273}{273+30}$;

α — coeficientul de solubilitate al gazului urmărit, la temperatura la care s-a făcut determinarea; în cazul nostru, la temperatura de 30°C, valoarea lui α pentru oxigen este de 0,0262 (tabelul 37);

P_0 — 10 000 dacă se lucrează cu lichid Brodie ca lichid manometric, deoarece la o coloană de 760 mm mercur corespunde o coloană de 10 000 mm lichid Brodie.

Introducînd datele obținute în formulă, vom avea:

$$k = \frac{(V - V_1)\frac{273}{T} + V_1\alpha}{P_0} = \frac{(18{,}527 - 4{,}75)\frac{273}{273 + 30} + 4{,}75 \times 0{,}0262}{10\,000} =$$

$$= \frac{13{,}777 \cdot 0{,}90 + 0{,}124}{10\,000} = \frac{12{,}399 + 0{,}124}{10\,000} = \frac{12{,}523}{10\,000} = 0{,}00126 \text{ cm}^3 \text{ sau } 1{,}26 \text{ mm}^3$$

Deci pentru ridicarea cu 1 mm a coloanei de lichid în ramura deschisă a manometrului trebuie să se degaje 1,26 mm³ de oxigen. Cantitatea totală de oxigen degajat este $= h \times k = 154 \times 1{,}26 = 194{,}04$ mm³.

Pentru calcularea constantei k în cazul peroxidazei se procedează în același fel, însă se înlocuiește valoarea lui α cu cifra corespunzătoare pentru solubilitatea bioxidului de carbon, care se degajă în timpul determinării.

Tabelul 37

Coeficientul de solubilitate al diferitelor gaze în apă la diferite temperaturi (după Meşkova, N. P., Severin, S. E.)

t°C	O_2	CO_2	N_2	CO
0	0,0489	1,713	0,0239	0,0354
10	0,0380	1,194	0,0196	0,0282
20	0,0310	0,878	0,0164	0,0232
30	0,0262	0,665	0,0138	0,0200
40	0,0231	0,530	0,0118	0,0178

BIBLIOGRAFIE

1. Georgescu, P., Păunescu, E., *Metode biochimice de diagnostic și cercetare*, București, Editura medicală, 1960.
2. Meşkova, N. P., Severin, S. E., *Praktikum po biohimii jivotnih*, Moskva, Sovetskaia Nauka, 1960.
3. Oppenheimer, C., *Die Methode der Fermente*, Vol. III, Leipzig, 1929.
4. Pinkovschi, E., Tonea, E., *Îndrumătorul laborantului chimist*, București, Editura tehnică, 1962.
5. * * * *Prospectul instalației Warburg.*
6. Rubin, B. A., *Fiziologhia rastenii*, vol. I, Moskva, Sovetskaia Nauka, 1954.
7. Umbreit, W., Burris, R. H., Stauffer, J. F., *Manometriceskie metodi izuceniia tkanevogo obmena*, Moskva, Izdatelstvo Inostrannoi literaturi, 1961.

Scanned with OKEN Scanner

ANEXA II

REFRACTOMETRIA

de lector NICOLAE POPOVICI

Refractometria, adică măsurarea indicilor de refracție, este o metodă extrem de simplă de determinare a concentrațiilor soluțiilor, oferind totodată o precizie înaltă, realizabilă cu o cantitate mică de substanță.

Indicele de refracție este raportul între sinusurile unghiurilor de incidență și de refracție ale unei raze de lumină care străbate suprafața de separare a două medii omogene (fig. 234):

$$n_{2,1} = \frac{\sin i_1}{\sin i_2}$$

Constanta $n_{2,1}$ se numește indicele de refracție relativ al unei substanțe în raport cu cealaltă.

Dacă se măsoară indicii de refracție ai celor două substanțe în raport cu vidul (indicii de refracție absoluți), atunci indicele de refracție relativ este egal cu raportul între indicii absoluți n_1 și n_2 ai celor două substanțe:

$$n_{2,1} = \frac{n_2}{n_1}$$

Din această formulă rezultă că $\sin i_1 > \sin i_2$ și în consecință $i_1 > i_2$. Prin urmare, i_2 nu poate depăși o anumită valoare $\varphi < 90°$, care corespunde la $i_1 = 90°$ și este determinată direct de relația care derivă din legea refracției:

$$\sin \varphi = \frac{n_1}{n_2}$$

Valoarea limită $i_2 = \varphi$ se numește *unghiul limită* sau *unghiul critic* și depinde de indicii de refracție ai celor două substanțe. Indicele de refracție al unei substanțe poate fi determinat prin măsurarea unghiului limită din relația:

$$n_1 = n_2 \cdot \sin \varphi,$$

dacă se cunoaște indicele de refracție al celeilalte substanțe (n_2).

Determinarea indicilor de refracție prin metoda măsurării unghiului limită a fost folosită pentru prima oară de Wolaston, la începutul secolului al

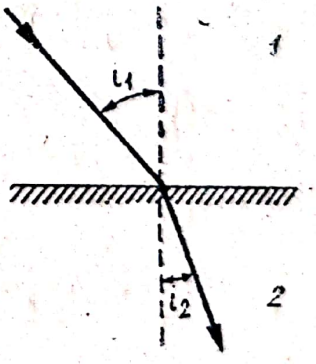


Fig. 234. Refracția razei de lumină:
1 și *2* — medii de densități diferite; i_1 — unghiul de incidență; i_2 — unghiul de refracție.

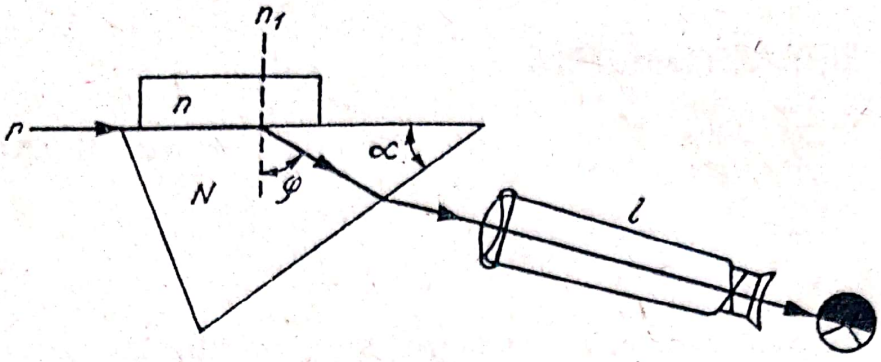


Fig. 235. Schema unui refractometru bazat pe măsurarea unghiului limită:

N — prisma de măsurare; *n* — substanța cercetată; n_1 — normala; *r* — raza incidentă; φ — unghiul limită; *l* — luneta.

XIX-lea, devenind azi cea mai importantă metodă de măsurare a indicilor de refracție, fiind principiul de funcționare al majorității refractometrelor.

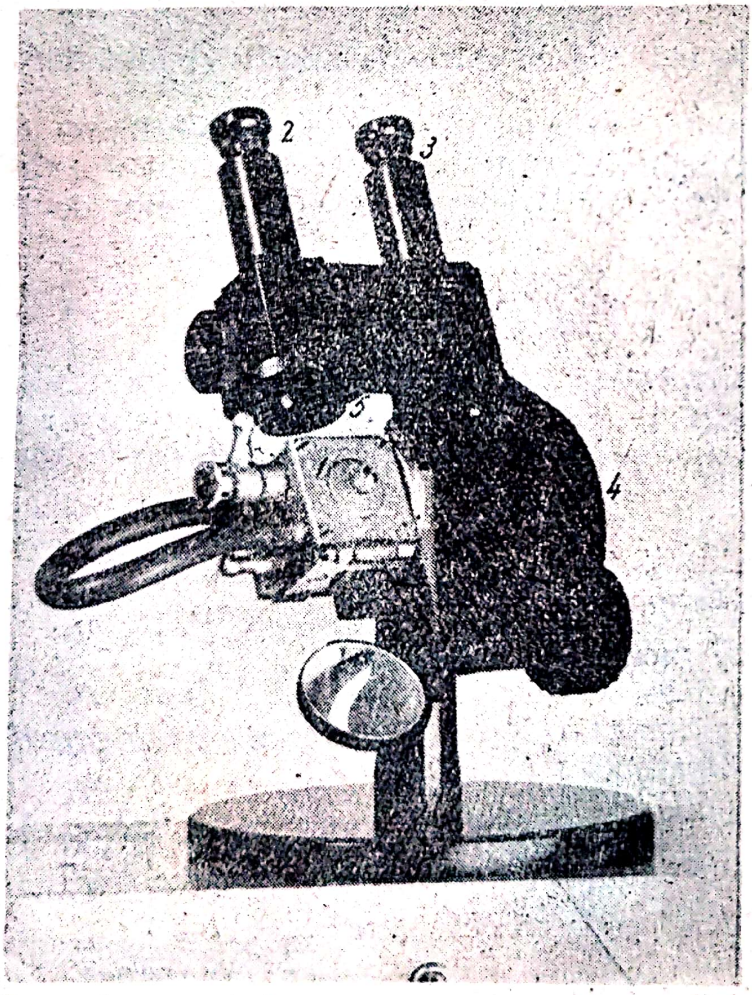


Fig. 236. Refractometrul Abbe:

1 — bloc de prisme; *2* — lunetă; *3* — lupă; *4* — alidadă cu butonul de rotire; *5* — compensatorul de dispersie cu butonul de rotire.

Refractometrele, bazate pe măsurarea unghiului limită, folosesc o prismă de măsurare (fig. 235), confecționată din sticlă cu indice de refracție cunoscut *N* mai mare decît indicele de refracție al substanțelor cu care se lucrează; cu cît *N* este mai mare, cu atît limita superioară de măsurare este mai ridicată. Limita inferioară de măsurare depinde de unghiul α, de dimensiunile prismei etc.

Substanța (*n*) al cărei indice de refracție trebuie aflat se pune în contact nemijlocit cu prisma și se iluminează cu un fascicul de raze (*r*) perpendicular pe normală (n_1). Lumina, refractîndu-se, traversează prisma și privind cu o lunetă (*l*) de cealaltă parte a prismei, în momentul în care se atinge unghiul limită, cîmpul lunetei apare pe jumătate întunecat și

pe jumătate luminat. Pe o scală alăturată, printr-o lupă 3 (v. fig. 236) se citește indicele de refracție al substanței cercetate (n_D). Refractometrul Abbé (fig. 236) posedă, pe lîngă prisma de măsurare, și o prismă de iluminare, constituind împreună *blocul de prisme 1*. Prisma de măsurare are un unghi de refringență de circa 60°. Picătura de lichid se pune între fețele ipotenuze ale celor două prisme, constituind un strat foarte subțire, de 0,1—0,2 mm. Lumina îndreptată asupra prismei suplimentare pătrunde în lichid, se refractă la limita acestuia cu prisma de măsurare, apoi trece în luneta 2. Blocul de prisme se rotește cu ajutorul butonului alidadei 4, pînă ce limita de separație între cîmpul luminos și cel întunecos se aduce la încrucișarea celor două linii din lunetă. Mecanismul de rotire a blocului de prisme (alidada) este solidar cu o scală gradată în valori ale indicelui de refracție, iar la unele tipuri de refractometre, paralel se vede și o scală gradată în concentrații procentuale de zaharoză.

Prismele sînt montate în camere metalice goale, prevăzute cu olive pentru racordare la un ultratermostat, și sînt articulate prin intermediul unor balamale.

Tehnica de lucru. Refractometrul se așază în fața unei surse de lumină (lumina zilei sau un bec de 100 W). Se introduc între prisme 1—2 picături de lichid de cercetat, prin unul dintre procedeele care reies din figurile 237 și 238 (fie se rotește tot refractometrul pînă ce prisma de măsurare ajunge cu ipotenuza în poziție orizontală, se pun picăturile, apoi se închide blocul și se întoarce refractometrul în poziția de lucru, fie se deschide blocul, se coboară prisma de iluminare pînă

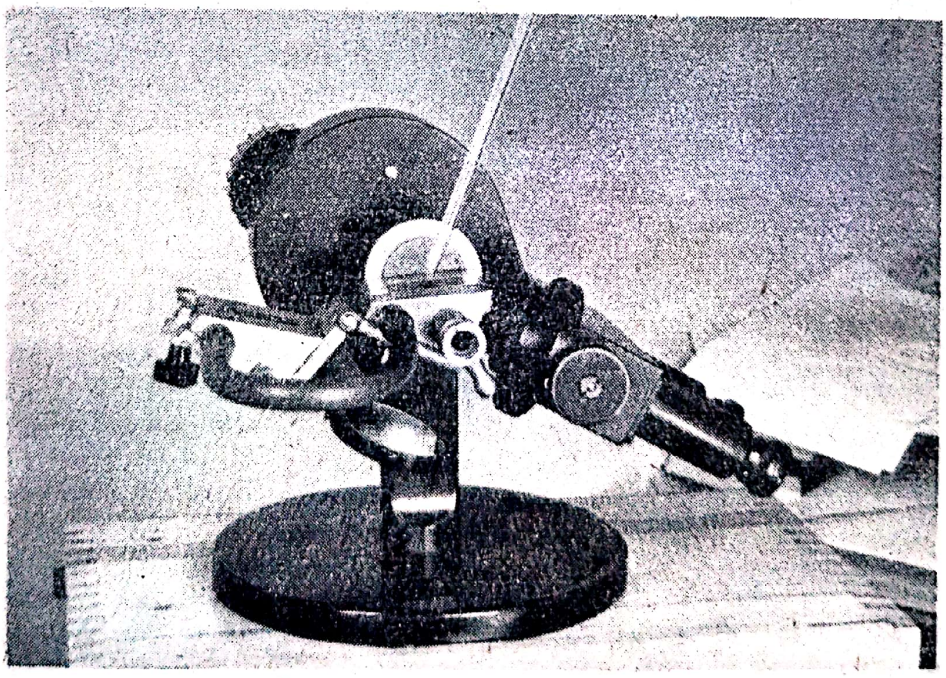


Fig. 237. Punerea lichidelor pe prisme, la refractometrul Abbé, prin rotirea refractometrului.

Scanned with OKEN Scanner

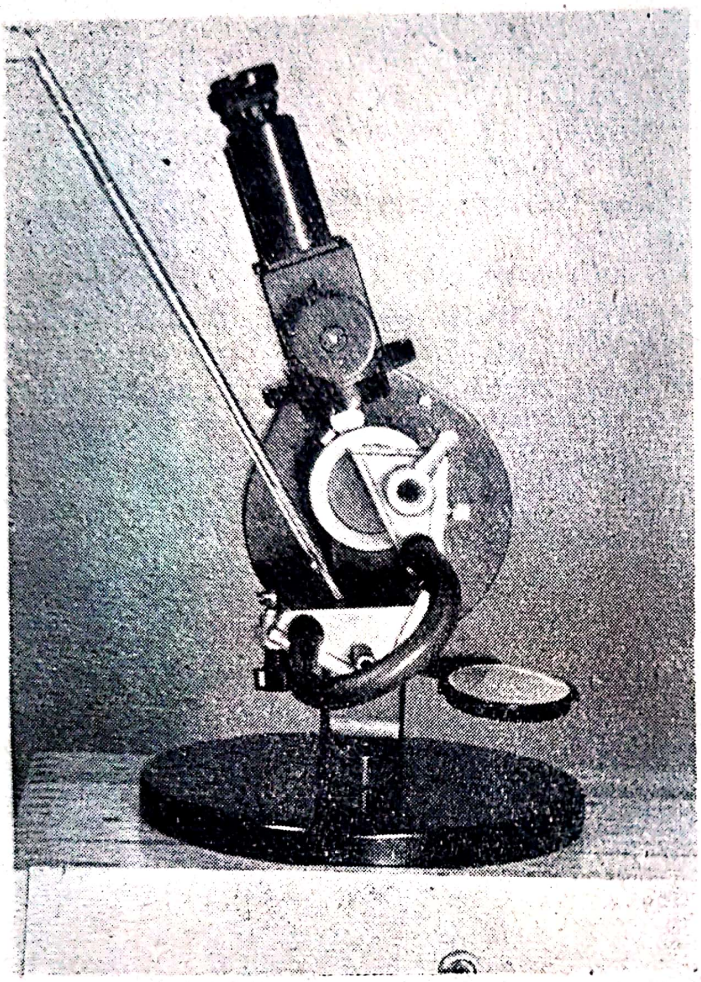


Fig. 238. Punerea lichidelor pe prisme, la refractometrul Abbé, prin coborîrea prismei de iluminare în poziție orizontală.

în poziție orizontală, se pun picăturile de lichid și se închide blocul).

Dacă limita de separare între cele două cîmpuri este difuză, se învîrtește compensatorul de dispersie 5 (v. figura 236), pînă ce aceasta devine clară. Pe scala valorilor *n* (indicele de refracție), cea mai mică diviziune are valoarea de 0,001, iar a patra zecimală poate fi aproximată după poziția reperului transversal între două diviziuni succesive în care este situat.

Cînd se lucrează cu substanțe pure dizolvate, din valoarea indicelui de refracție se poate stabili concentrația soluției fie aplicînd unele formule empirice, valabile numai pentru unele substanțe, fie interpolînd valorile obținute ale indicelui de refracție între valori succesive dinainte stabilite într-o scară etalon.

BIBLIOGRAFIE

1. Ioffe, B. V., *Refractometrie pentru chimiști, București*, Editura tehnică, 1958.
2. * * * *Prospectul refractometrului Abbé.*

Scanned with OKEN Scanner

ANEXA III

REȚETELE DE PREPARARE A REACTIVILOR[1]

1. ACETAT DE PLUMB ALCALIN (defecant)

Se freacă într-un mojar 60 g de acetat de plumb neutru cu 20 g PbO (litargă) și după aceea se ține pe o baie de apă (sau pe sită de azbest) într-o capsulă de porțelan, amestecîndu-l cu o baghetă pînă ce masa capătă o culoare albă-roz. Se adaugă 200 ml de apă distilată fierbinte și se trece totul într-un vas de 250 ml cu dop șlefuit. Se lasă să stea 12—20 ore, agitînd din cînd în cînd, iar după aceea se filtrează și se păstrează într-un vas bine închis.

2. ACID ACETIC

a) Soluție 0,5 n. Această soluție trebuie să conțină 30,025 g CH_3—COOH la litru. Deoarece acidul acetic poate să aibă concentrații diferite, este necesar să se cunoască concentrația sau densitatea acidului de la care se pornește. În cazul cînd acidul acetic are concentrația, de exemplu, de 96% (sau densitatea 1,0588), se caută în tabelul 38 cantitatea de CH_3—COOH, în grame, care se găsește într-un litru de acid. Cunoscînd această valoare (1 016 g/l), se calculează numărul de mililitri care trebuie luați pentru prepararea soluției 0,5 *n*, după următorul raționament:

Dacă 1 016 g CH_3—COOH se găsesc în 1 000 ml acid 96%

30,025 g CH_3—COOH se vor găsi în x ml

$$x = \frac{1\,000 \times 30{,}025}{1\,016} = 29{,}5 \text{ ml}$$

Deci se iau 29,5 ml de acid acetic 96% într-un balon cotat de 1 l și se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluție 0,1 n.* Se iau 5,91 ml de acid acetic 96% într-un balon cotat de 1 l și se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul

---

[1] Anexa a fost întocmită de lector V. D. Petrea, candidat în științe biologice și șef de lucrări O. Boldor, candidat în științe biologice, pe baza bibliografiei menționate și a unor indicații primite din partea autorilor manualului. În această anexă sînt indicate rețetele de preparare a reactivilor necesari pentru efectuarea experiențelor menționate în manual, cu excepția soluțiilor procentuale de substanțe solide în apă și a unor reactivi al căror mod de preparare era necesar să fie indicat în text la experiențele respective.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 38

Cantitatea de acid acetic conținut în soluții de diferite densități

Densitatea la 20°C	Conținutul în CH_3COOH, în g		Densitatea la 20°C	Conținutul în CH_3COOH, în g		Densitatea la 20°C	Conținutul în CH_3COOH, în g	
	în 100 g	în 1 l		în 100 g	în 1 l		în 100 g	în 1 l
0,9996	1	9,996	1,0428	34	354,6	1,0678	68	726,1
1,0012	2	20,02	1,0438	35	365,3	1,0682	69	737,1
1,0025	3	30,08	1,0449	36	376,2	1,0685	70	748,0
1,0040	4	40,16	1,0459	37	387,0	1,0687	71	758,8
1,0055	5	50,28	1,0469	38	397,8	1,0690	72	769,7
1,0069	6	60,41	1,0479	39	408,7	1,0693	73	780,6
1,0083	7	70,58	1,0488	40	419,5	1,0694	74	791,4
1,0097	8	80,78	1,0498	41	430,4	1,0696	75	802,2
1,0111	9	91,00	1,0507	42	441,3	1,0698	76	813,0
1,0125	10	101,3	1,0516	43	452,2	1,0699	77	823,8
1,0139	11	111,5	1,0525	44	463,1	1,0700	78	834,5
1,0154	12	121,8	1,0534	45	474,0	1,0700	79	845,3
1,0168	13	132,2	1,0542	46	484,9	1,0700	80	856,0
1,0182	14	142,5	1,0551	47	495,9	1,0699	81	866,6
1,0195	15	152,9	1,0559	48	506,8	1,0698	82	877,2
1,0209	16	163,3	1,0567	49	517,8	1,0696	83	887,8
1,0223	17	173,8	1,0575	50	528,8	1,0693	84	898,2
1,0236	18	184,2	1,0582	51	539,7	1,0689	85	908,6
1,0250	19	194,8	1,0590	52	550,7	1,0685	86	918,9
1,0263	20	205,3	1,0597	53	561,6	1,0680	87	929,2
1,0276	21	215,8	1,0604	54	572,6	1,0675	88	939,4
1,0288	22	226,3	1,0611	55	583,6	1,0668	89	949,5
1,0301	23	236,9	1,0618	56	594,6	1,0661	90	959,5
1,0313	24	247,5	1,0624	57	605,6	1,0652	91	963,3
1,0326	25	258,2	1,0631	58	616,6	1,0643	92	979,2
1,0338	26	268,3	1,0637	59	627,6	1,0632	93	988,8
1,0349	27	279,4	1,0642	60	638,5	1,0619	94	998,2
1,0361	28	290,1	1,0648	61	649,5	1,0605	95	1007
1,0372	29	300,8	1,0653	62	660,5	1,0588	96	1016
1,0384	30	311,5	1,0658	63	671,5	1,0570	97	1025
1,0395	31	322,2	1,0662	64	682,4	1,0549	98	1034
1,0406	32	333,0	1,0666	65	693,3	1,0524	99	1042
1,0417	33	343,8	1,0671	66	704,3	1,0498	100	1050
			1,0675	67	715,2			

de la care se pornește are altă concentrație, cantitatea care trebuie luată pentru prepararea soluției se calculează după raționamentul expus la punctul *a*, știind că un litru de soluție 0,1 *n* trebuie să conțină 6,005 g CH_3—COOH.

c) Soluție 10%. Se pun într-un balon cotat de 1 l 9,8 ml de acid acetic 96% (care conțin 10 g CH_3—COOH) și se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul acetic are altă concentrație, volumul necesar pentru prepararea soluției se va calcula după raționamentul expus la punctul *a*.

Scanned with OKEN Scanner

3. ACID AZOTIC

a) Soluție 10%. Se iau într-un balon cotat de 1 l 106,6 ml de acid azotic cu densitatea 1,40 și se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul folosit la prepararea soluției are altă densitate, numărul de mililitri care trebuie luați se calculează după formula:

$$\frac{a \times 1\,000}{b},$$

în care:

a reprezintă numărul de grame de HNO_3 care trebuie să se găsească într-un litru de soluție 10% (în cazul nostru 100 g);

b — cantitatea de HNO_3, în grame, care se găsește în 1 l de acid azotic de densitatea respectivă; valoarea lui b se caută în tabelul 39.

Tabelul 39

Greutatea specifică și conținutul în HNO_3 al soluțiilor apoase de acid azotic la 20°C

Greutatea specifică	HNO_3		Greutatea specifică	HNO_3	
	% greut.	g/l		% greut.	g/l
1,000	0,333	3,33	1,150	25,48	293,02
1,005	1,255	12,61	1,155	26,24	303,07
1,010	2,164	21,86	1,160	27,00	313,20
1,015	3,073	31,19	1,165	27,76	323,41
1,020	3,982	40,62	1,170	28,51	333,57
1,025	4,883	50,05	1,175	29,25	343,69
1,030	5,784	59,57	1,180	30,00	354,00
1,035	6,661	68,94	1,185	30,74	364,27
1,040	7,530	78,31	1,190	31,47	374,49
1,045	8,398	87,76	1,195	32,21	384,91
1,050	9,259	97,22	1,200	32,94	395,38
1,055	10,12	106,77	1,205	33,68	405,84
1,060	10,97	116,28	1,210	34,41	416,36
1,065	11,81	125,78	1,215	35,16	427,20
1,070	12,65	135,36	1,220	35,93	438,35
1,075	13,48	144,91	1,225	36,70	449,58
1,080	14,31	154,55	1,230	37,48	461,00
1,085	15,13	164,16	1,235	38,25	472,39
1,090	15,95	173,86	1,240	39,02	483,85
1,095	16,76	183,52	1,245	39,80	495,51
1,100	17,58	193,38	1,250	40,58	507,25
1,105	18,39	203,21	1,255	41,36	519,07
1,110	19,19	213,01	1,260	42,14	530,96
1,115	20,00	223,00	1,265	42,92	542,94
1,120	20,79	232,85	1,270	43,70	554,99
1,125	21,59	242,89	1,275	44,48	567,12
1,130	22,38	252,89	1,280	45,27	579,46
1,135	23,16	262,87	1,285	46,06	591,87
1,140	23,94	272,92	1,290	46,85	604,37
1,145	24,71	282,93	1,295	47,63	616,81

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 39 (continuare)

Greutatea specifică	HNO_3		Greutatea specifică	HNO_3	
	% greut.	g/l		% greut.	g/l
1,300	48,42	629,46	1,400	66,97	937,58
1,305	49,21	642,19	1,405	68,10	956,81
1,310	50,00	655,00	1,410	69,23	976,14
1,315	50,85	668,68	1,415	70,39	996,02
1,320	51,71	682,57	1,420	71,63	1017,15
1,325	52,56	696,42	1,425	72,86	1038,25
1,330	53,41	710,35	1,430	74,09	1059,49
1,335	54,27	724,50	1,435	75,35	1081,28
1,340	55,13	738,74	1,440	76,71	1104,62
1,345	56,04	753,74	1,445	78,07	1128,11
1,350	56,95	768,83	1,450	79,43	1151,74
1,355	57,87	784,14	1,455	80,88	1176,80
1,360	58,78	799,41	1,460	82,39	1202,89
1,365	59,69	814,76	1,465	83,91	1229,29
1,370	60,67	831,18	1,470	85,50	1256,85
1,375	61,69	848,23	1,475	87,29	1287,52
1,380	62,70	865,26	1,480	89,07	1318,24
1,385	63,72	882,53	1,485	91,13	1353,28
1,390	64,74	899,89	1,490	93,49	1393,00
1,395	65,84	918,47	1,495	95,46	1427,12

b) Soluție 5%. Se pun 53,3 ml HNO_3 cu densitatea 1,40 într-un balon cotat de 1 l și se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul folosit la prepararea soluției are altă densitate, cantitatea necesară se calculează după modul descris la punctul *a*.

4. ACID CLORHIDRIC

a) Soluție 0,2 n. Pentru prepararea acestei soluții trebuie să se ia 7,294 g HCl pentru 1 l de soluție. Întrucît acidul clorhidric poate să aibă concentrații diferite, este necesar să se calculeze volumul de acid care conține 7,294 g HCl. Cunoscînd densitatea acidului pe care îl avem la dispoziție, se caută în tabelul 40 cantitatea de HCl (în g) care se găsește în 1 l de acid clorhidric de densitatea respectivă. Dacă, de exemplu, acidul clorhidric are densitatea 1,190, din tabelul 40 rezultă că el conține în 1 l 456,01 g HCl. Deci pentru a calcula în cîți mililitri de acid clorhidric de densitatea 1,190 se găsesc 7,294 g HCl, se recurge la raționamentul următor:

Dacă 456,01 g HCl se găsesc în 1 000 ml HCl (d=1,190),

7,294 g se vor găsi în x ml,

$$x = \frac{7{,}294 \times 1\,000}{456{,}01} = 15{,}99 \text{ ml}$$

Prin urmare, se pun într-un balon cotat de 1 l $15{,}99 \simeq 16$ ml HCl ($d = 1{,}190$) și se completează cu apă distilată pînă la semn.

Tabelul 40

Greutatea specifică și conținutul în HCl al soluțiilor apoase de acid clorhidric, la 20°C

Greutatea specifică	HCl		Greutatea specifică	HCl	
	% greut.	g/l		% greut.	g/l
1,000	0,36	3,60	1,100	20,39	224,29
1,005	1,36	13,67	1,105	21,36	236,03
1,010	2,36	23,84	1,110	22,33	247,86
1,015	3,37	34,21	1,115	23,29	259,68
1,020	4,39	44,78	1,120	24,25	271,60
1,025	5,41	55,45	1,125	25,22	283,72
1,030	6,43	66,23	1,130	26,20	296,06
1,035	7,46	77,21	1,135	27,18	308,49
1,040	8,49	88,30	1,140	28,18	321,25
1,045	9,51	99,38	1,145	29,17	334,00
1,050	10,52	110,46	1,150	30,14	346,61
1,055	11,52	121,54	1,155	31,14	359,64
1,060	12,51	132,61	1,160	32,14	372,82
1,065	13,50	143,78	1,165	33,16	386,32
1,070	14,49	155,04	1,170	34,18	399,91
1,075	15,48	166,41	1,175	35,20	413,60
1,080	16,47	177,88	1,180	36,23	427,51
1,085	17,45	189,33	1,185	37,27	441,65
1,090	18,43	200,89	1,190	38,32	456,01
1,095	19,41	212,54	1,195	39,37	470,47
			1,198	40,00	479,15

b) Soluție 0,1 n. Se pun într-un balon cotat de 1 l 7,99 ≃ 8 ml HCl ($d = 1,190$) și se completează cu apă distilată pînă la semn.

Dacă acidul clorhidric are altă densitate, volumul de HCl necesar pentru prepararea soluției se va calcula după raționamentul expus la punctul *a.*

c) Soluție 0,02 n (n/50). Se pun într-un balon cotat de 1 l 1,59 ≃ 1,60 ml HCl ($d = 1,190$) și se completează cu apă distilată pînă la semn.

Dacă acidul clorhidric are altă densitate, volumul de HCl necesar pentru prepararea soluției se va calcula după raționamentul expus la punctul *a.*

Aflarea factorului soluției de HCl n/50. Se prepară o soluție de tetraborat de sodiu *n/50.* În acest scop se cîntăresc cu precizie 3,8145 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, se dizolvă într-un balon cotat de 1 l în apă distilată, iar după dizolvare se completează cu apă distilată pînă la semn. De asemenea, se prepară o soluție de roșu de metil 0,2% (se cîntăresc 0,2 g de substanță și se dizolvă în 100 ml de alcool etilic) și o soluție de albastru de metilen 0,125% (se dizolvă 0,125 g de substanță în 100 ml de alcool etilic).

Pentru aflarea factorului se pun în 4 baloane Erlenmeyer exact cîte 25 ml din soluția de tetraborat de sodiu pregătită și cîte 3 picături de indicator preparat proaspăt prin amestecarea soluției de roșu de metil cu soluția de albastru de metilen în proporția 5 : 2. Se titrează conținutul baloanelor cu soluția de acid clorhidric a cărui factor se află, pînă cînd culoarea soluției virează de la verde la violet.

Scanned with OKEN Scanner

Factorul soluției de acid clorhidric va fi dat de raportul dintre numărul de mililitri de soluție de tetraborat și media numărului de mililitri de HCl folosiți la titrare $\left(F = \frac{25 \text{ ml } Na_2B_4O_7}{x \text{ ml HCl}}\right)$.

d) Soluție 25%. Se iau într-un balon cotat de 1 l 548,2 ml HCl cu $d = 1{,}190$ și se completează cu apă distilată pînă la semn.

Dacă acidul clorhidric pe care îl avem la dispoziție are altă densitate, numărul de mililitri care se iau pentru prepararea soluției se calculează după formula:

$$\frac{a \times 1\,000}{b},$$

în care:

a reprezintă numărul de grame de HCl care trebuie să se găsească în 1 000 ml de soluție 25% (în cazul nostru 250 g),

b — cantitatea de HCl, în grame, care se găsește în 1 l de HCl de densitatea respectivă; valoarea lui *b* se caută în tabelul 40.

e) Soluție 20%. Se pun într-un balon cotat de 1 l 438,5 ml HCl cu $d = 1{,}190$ și se completează cu apă distilată pînă la semn.

Dacă acidul clorhidric folosit are o altă densitate, cantitatea care trebuie să se ia pentru prepararea soluției se calculează după raționamentul expus la punctul *d*.

f) Soluție 10%. Se pun într-un balon cotat de 1 l 219,2 ml HCl cu $d = 1{,}190$ și se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul folosit la prepararea soluției are o altă densitate, cantitatea necesară se calculează după raționamentul expus la punctul *d*.

g) Soluție 5%. Se iau într-un balon cotat de 1 l 109,6 ml HCl cu $d = 1{,}190$ și se completează cu apă distilată pînă la semn.

În cazul în care acidul clorhidric folosit are o altă densitate, cantitatea care trebuie să se ia pentru prepararea soluției se calculează după raționamentul expus la punctul *d*.

h) Soluție 2%. Se pun 43,8 ml HCl cu $d = 1{,}190$ într-un balon cotat de 1 l și se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul folosit la prepararea soluției are altă densitate, cantitatea de acid care trebuie luată se calculează după raționamentul expus la punctul *d*.

i) Soluție 1%. Se pun într-un balon cotat de 1 l 21,9 ml HCl cu $d = 1{,}190$ și se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul folosit pentru prepararea soluției are o altă densitate, cantitatea necesară se calculează după procedeul expus la punctul *d*.

5. ACID β-INDOLILACETIC

a) Soluție 0,01 n. Se cîntăresc 0,1751 g de substanță. Deoarece se dizolvă greu, se recomandă ca substanța cîntărită să se pună în apă distilată cu o zi înainte de utilizare. Pentru a accelera dizolvarea, se încălzește, fără a depăși temperatura de 40°C. După dizolvare,

soluția se aduce la volumul de 100 ml într-un balon cotat. Pentru experiența 240, 2 celelalte concentrații se obțin prin diluarea acestei soluții.

Pentru concentrații mari este de preferat sarea de K sau de Na a acestui acid, deoarece sînt mai solubile decît acidul. Pentru sarea de K se cîntăresc 0,2131 g, iar pentru sarea de Na 0,1970 g de substanță, care se aduc la un volum de 100 ml în balon cotat. În lipsa acestor substanțe se dizolvă 0,1751 g de acid β-indolilacetic într-o soluție diluată de KOH, respectiv NaOH, și după aceea se neutralizează cu acid acetic în prezența fenolftaleinei.

b) Soluție 0,001 n. Se cîntăresc 0,0175 g de substanță, se dizolvă în apă distilată și se aduc la un volum de 100 ml în balon cotat.

6. ACID OXALIC

a) Soluție 0,1 n. Se cîntăresc cu precizie 6,3036 g $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ sau 4,5020 g $H_2C_2O_4$ și se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l, după care se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) Soluție 0,05 n. Se cîntăresc cu precizie 3,1518 g $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ sau 2,2510 g $H_2C_2O_4$ și se procedează ca la punctul *a*.

7. ACID PICRIC, SOLUȚIE ALCOOLICĂ SATURATĂ

Se dizolvă 6,2 g de acid picric în 100 ml de alcool etilic 96%.

8. ACID SULFURIC

a) Soluție 1 n. Se toarnă cu precauție într-un balon cotat de 1 l, umplut pe jumătate cu apă distilată, 28,4 ml H_2SO_4 cu $d = 1,831$, și după răcire se completează pînă la semn cu apă distilată.

Dacă acidul sulfuric are o altă densitate, se caută în tabelul 41 cantitatea de H_2SO_4 (în grame) care se găsește în 1 l de acid sulfuric de densitatea respectivă. Știind că o soluție 1 *n* trebuie să conțină 49,04 g H_2SO_4 la litru, pentru a afla numărul de mililitri care conțin această cantitate se aplică formula:

$$\frac{49,04 \times 1\,000}{a},$$

în care *a* reprezintă numărul de g H_2SO_4 care se găsesc în 1 l de acid sulfuric de densitatea respectivă; valoarea lui *a* se caută în tabelul 41.

b) Soluție 0,1 n. Se toarnă cu precauție într-un balon cotat de 1 l, umplut pe jumătate cu apă distilată, 2,84 ml H_2SO_4 cu $d = 1,831$, și după răcire se completează cu apă distilată pînă la semn.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 41

Greutatea specifică şi conţinutul în H_2SO_4 al soluţiilor apoase de acid sulfuric, la 20°C

Greutatea specifică	H_2SO_4		Greutatea specifică	H_2SO_4	
	% greut.	g/l		% greut.	g/l
1,000	0,261	2,609	1,260	35,01	441,13
1,005	0,986	9,904	1,265	35,60	450,34
1,010	1,731	17,483	1,270	36,19	459,61
1,015	2,485	25,223	1,275	36,78	468,94
1,020	3,242	33,068	1,280	37,36	478,21
1,025	4,000	41,000	1,285	37,95	487,66
1,030	4,746	48,884	1,290	38,53	497,04
1,035	5,493	56,852	1,295	39,10	506,34
1,040	6,237	64,865	1,300	39,68	515,84
1,045	6,956	72,690	1,305	40,25	525,26
1,050	7,704	80,892	1,310	40,82	534,74
1,055	8,415	88,778	1,315	41,39	544,28
1,060	9,129	96,767	1,320	41,95	553,74
1,065	9,843	104,83	1,325	42,51	563,26
1,070	10,56	112,46	1,330	43,07	572,83
1,075	11,26	121,04	1,335	43,62	582,33
1,080	11,96	129,17	1,340	44,17	591,88
1,085	12,66	137,36	1,345	44,72	601,48
1,090	13,36	145,62	1,350	45,26	611,01
1,095	14,04	153,74	1,355	45,80	620,59
1,100	14,73	162,03	1,360	46,33	630,09
1,105	15,41	170,28	1,365	46,86	639,64
1,110	16,08	178,49	1,370	47,39	649,24
1,115	16,76	186,87	1,375	47,92	658,90
1,120	17,43	195,22	1,380	48,45	668,61
1,125	18,09	203,51	1,385	48,97	678,23
1,130	18,76	211,99	1,390	49,48	687,77
1,135	19,42	220,42	1,395	49,99	697,36
1,140	20,08	228,91	1,400	50,50	707,00
1,145	20,73	237,36	1,405	51,01	716,69
1,150	21,38	245,87	1,410	51,52	726,43
1,155	22,03	254,45	1,415	52,02	735,58
1,160	22,67	262,97	1,420	52,51	745,64
1,165	23,31	271,55	1,425	53,01	755,39
1,170	23,95	280,21	1,430	53,50	765,05
1,175	24,58	288,81	1,435	54,00	774,90
1,180	25,21	297,48	1,440	54,49	784,66
1,185	25,84	306,20	1,445	54,97	794,32
1,190	26,47	314,99	1,450	55,45	804,03
1,195	27,10	323,85	1,455	55,93	813,78
1,200	27,72	332,64	1,460	56,41	823,59
1,205	28,33	341,38	1,465	56,89	833,44
1,210	28,95	350,29	1,470	57,36	843,44
1,215	29,57	359,28	1,475	57,84	853,14
1,220	30,18	368,20	1,480	58,31	862,99
1,225	30,79	377,18	1,485	58,78	872,88
1,230	31,40	386,22	1,490	59,24	882,68
1,235	32,01	395,32	1,495	59,70	892,52
1,240	32,61	404,36	1,500	60,17	902,55
1,245	33,22	413,59	1,505	60,62	912,33
1,250	33,82	422,75	1,510	61,08	922,31
1,255	34,42	431,97	1,515	61,54	932,33

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 41 (urmare)

Greutatea specifică	H_2SO_4		Greutatea specifică	H_2SO_4	
	% greut.	g/l		% greut.	g/l
1,520	62,00	942,40	1,700	77,63	1319,71
1,525	62,45	952,36	1,705	78,06	1330,92
1,530	62,91	962,52	1,710	78,49	1342,18
1,535	63,36	972,58	1,715	78,93	1353,65
1,540	63,81	982,67	1,720	79,37	1365,16
1,545	64,26	992,81	1,725	79,81	1376,72
1,550	64,71	1003,01	1,730	80,25	1388,33
1,555	65,15	1013,09	1,735	80,70	1400,15
1,560	65,59	1023,20	1,740	81,16	1412,18
1,565	66,03	1033,37	1,745	81,62	1424,27
1,570	66,47	1043,58	1,750	82,09	1436,58
1,575	66,91	1053,84	1,755	82,57	1449,11
1,580	67,35	1064,13	1,760	83,06	1461,86
1,585	67,79	1074,47	1,765	83,57	1475,11
1,590	68,23	1084,86	1,770	84,08	1488,22
1,595	68,66	1095,12	1,775	84,61	1501,83
1,600	69,09	1105,44	1,780	85,16	1515,85
1,605	69,53	1115,96	1,785	85,74	1530,46
1,610	69,96	1126,36	1,790	86,35	1545,67
1,615	70,39	1136,80	1,795	86,99	1561,47
1,620	70,82	1147,28	1,800	87,69	1578,42
1,625	71,25	1157,81	1,805	88,43	1596,16
1,630	71,67	1168,22	1,810	89,23	1615,06
1,635	72,09	1178,67	1,815	90,12	1635,68
1,640	72,52	1189,33	1,820	91,11	1658,20
1,645	72,95	1200,03	1,821	91,33	1663,19
1,650	73,37	1210,61	1,822	91,56	1668,22
1,655	73,80	1221,39	1,823	91,78	1673,15
1,660	74,22	1232,05	1,824	92,00	1678,08
1,665	74,64	1242,75	1,825	92,25	1683,56
1,670	75,07	1253,67	1,826	92,51	1689,23
1,675	75,49	1264,45	1,827	92,77	1695,91
1,680	75,92	1275,46	1,828	93,03	1700,59
1,685	76,34	1286,33	1,829	93,33	1707,57
1,690	76,77	1297,41	1,830	93,64	1713,61
1,695	77,20	1308,54	1,831	93,94	1721,00

Dacă acidul are altă densitate, pentru calcularea volumului de H_2SO_4 necesar la prepararea soluției se aplică raționamentul expus la punctul *a*, știind că 1 l de soluție 0,1 *n* H_2SO_4 trebuie să conțină 4,904 g H_2SO_4.

Factorul soluției se stabilește cu NaOH 0,1 *n* (reactivul 42) în prezență de metiloranj 1% sau fenolftaleină 1% (reactivul 33). În cazul folosirii fenolftaleinei ca indicator, soluția de H_2SO_4 se încălzește pînă la fierbere înainte de titrare, pentru a îndepărta CO_2.

Pentru aflarea factorului soluției preparate se titrează 4 probe de cîte 25 ml H_2SO_4 cu soluția de NaOH 0,1 *n*, cu factorul cunoscut. Dacă, de exemplu, pentru titrarea H_2SO_4 s-au consumat 24,75 ml NaOH (media

celor patru titrări), al cărui factor este 1,0076, atunci factorul soluției noastre de acid sulfuric va fi:

$$\frac{24{,}75 \times 1{,}0076}{25} = 0{,}9975.$$

c) *Soluție 75%*. Se toarnă cu precauție într-un balon cotat de 1 l, umplut pe jumătate cu apă distilată, 435,7 ml de H_2SO_4 cu $d = 1{,}831$ și după răcire se completează cu apă distilată pînă la semn.

Dacă acidul sulfuric folosit pentru prepararea acestei soluții are o altă densitate, numărul de mililitri care se iau se calculează după formula:

$$\frac{a \times 1\,000}{b},$$

în care:

a reprezintă numărul de grame de H_2SO_4 care trebuie să se găsească în 1 l de soluție 75% (în cazul nostru 750 g);

b — cantitatea de H_2SO_4 care se găsește în 1 l H_2SO_4 de densitatea respectivă; valoarea lui *b* se caută în tabelul 41.

d) *Soluție 70%*. Se toarnă cu precauție într-un balon cotat de 1 l, umplut pe jumătate cu apă distilată, 406,7 ml de acid sulfuric cu $d = 1{,}831$, și după răcire se completează cu apă distilată pînă la semn.

Dacă acidul sulfuric folosit pentru prepararea acestei soluții are o altă densitate, cantitatea necesară pentru prepararea soluției se calculează după raționamentul expus la punctul *c*.

e) *Soluție 39%*. Într-un balon cotat de 1 l umplut pînă la jumătate cu apă distilată se toarnă cu precauție 226,5 ml H_2SO_4 cu $d = 1{,}831$, și după răcire se completează pînă la semn cu apă distilată.

Dacă acidul sulfuric are o altă densitate, cantitatea necesară pentru prepararea acestei soluții se află după modul descris la punctul *c*.

f) *Soluție 27%*. Se toarnă cu precauție într-un balon cotat de 1 l, umplut pe jumătate cu apă distilată, 156,8 ml H_2SO_4 cu $d = 1{,}831$, și după răcire se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul folosit la prepararea soluției are o altă densitate, se calculează cantitatea necesară după raționamentul expus la punctul *c*.

g) *Soluție 25%*. Într-un balon cotat de 1 l, umplut pînă la jumătate cu apă distilată, se toarnă cu precauție 145,2 ml H_2SO_4 cu $d = 1{,}831$, și după răcire se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul de la care se pornește are o altă densitate, cantitatea necesară pentru prepararea soluției se calculează după raționamentul expus la punctul *c*.

h) *Soluție 10%*. Se toarnă cu precauție într-un balon cotat de 1 l, umplut pînă la jumătate cu apă distilată, 58,1 ml H_2SO_4 cu $d = 1{,}831$, și după răcire se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul sulfuric folosit pentru prepararea soluției are o altă densitate, cantitatea necesară se calculează după modul descris la punctul *c*.

Scanned with OKEN Scanner

i) *Soluție 1%*. Într-un balon cotat de 1 l, umplut pînă la jumătate cu apă distilată, se toarnă cu precauție 5,8 ml H_2SO_4 cu $d = 1,831$, și după răcire se completează cu apă distilată pînă la semn. Dacă acidul de la care se pornește are o altă densitate, cantitatea necesară pentru prepararea soluției se calculează după modul descris la punctul *c*.

9. ALBASTRU DE ANILINĂ

Se dizolvă 0,1 g de substanță în 10 ml de alcool etilic și se completează cu apă distilată într-un balon cotat pînă la volumul de 1 l.

10. ALCOOL ETILIC

a) *Soluție 95%*. La 100 ml de alcool etilic 96% se adaugă 1,25 ml de apă distilată.

b) *Soluție 70%*. La 100 ml de alcool etilic 96% se adaugă 40,8 ml de apă distilată. Dacă alcoolul folosit la prepararea soluției are altă concentrație, cantitatea de apă distilată care trebuie adăugată pentru prepararea soluției se caută în tabelul 42.

c) *Soluție 50%*. La 100 ml de alcool etilic 96% se adaugă 98,1 ml de apă distilată. Dacă alcoolul folosit la prepararea soluției are o altă concentrație, cantitatea de apă distilată care trebuie adăugată se caută în tabelul 42.

11. ALCOOL METILIC

a) *Soluție 92%*. Deoarece alcoolul metilic poate să aibă concentrații diferite, este necesar să se cunoască concentrația sau, în lipsa acesteia, densitatea alcoolului care servește la prepararea soluției. Dacă nu este indicată nici densitatea, aceasta trebuie determinată și, cunoscînd valoarea ei, se caută în tabelul 43 concentrația care îi corespunde. De exemplu, dacă se pornește de la o soluție alcoolică ce are densitatea 0,807, din tabelul 43 se constată că îi corespunde o concentrație de 96% CH_3OH, în procente de greutate.

Pentru a calcula cantitățile de alcool metilic și apă distilată care trebuie luate pentru prepararea soluției de 92% ne servim de regula amestecurilor. Se înscriu în colțurile din stînga ale unui dreptunghi cifrele care reprezintă concentrația în procente a soluțiilor inițiale (în cazul nostru, 96%, care reprezintă concentrația alcoolului metilic, și 0%, care reprezintă concentrația apei distilate).

În mijlocul dreptunghiului, la intersecția celor două diagonale, se scrie concentrația soluției pe care vrem să o preparăm (în cazul nostru 92%), iar în prelungirea diagonalelor, în colțurile din dreapta ale drept-

Tabelul 42

Cantitatea de apă (în ml) care trebuie adăugată la 100 ml alcool de o anumită concentrație pentru a fi adus la o concentrație mai mică

Concentrația reală a alcoolului diluat în vol. (%)	Concentrația reală a alcoolului de diluat în volume (%)																
	96	95	90	85	80	75	70	65	60	55	50	45	40	35	30	25	20
	Cantitatea de apă (în ml) necesară pentru diluarea a 100 ml alcool de concentrația de mai sus pentru a fi adus la concentrația menționată în stînga tabelului																
95	1,25																
90	7,7	6,4															
85	14,7	13,3	6,6														
80	22,4	20,9	13,8	6,8													
75	31,1	29,5	21,9	14,5	7,2												
70	40,8	39,2	31,1	23,1	15,3	7,6											
65	52,0	50,2	41,6	33,0	24,6	16,4	8,1										
60	64,9	63,0	53,5	44,4	35,4	26,4	17,5	8,7									
55	80,1	78,1	67,9	58,0	48,1	38,3	28,6	19,0	9,5								
50	98,1	96,0	84,7	73,9	63,1	52,4	41,8	31,3	20,8	10,3							
45	120,1	117,6	105,3	93,3	81,3	69,5	57,7	46,1	34,5	22,9	11,4						
40	147,2	144,5	130,8	117,3	104,0	90,8	77,6	64,5	51,5	38,4	25,5	12,7					
35	181,8	178,7	163,8	147,9	132,8	117,8	102,8	87,9	73,0	58,2	43,5	28,9	14,4				
30	227,7	224,1	206,2	188,5	171,0	156,6	136,2	119,0	101,7	84,5	67,4	50,4	33,5	16,7			
25	291,6	287,4	266,1	245,1	224,3	203,6	182,9	162,2	141,7	121,2	100,7	80,4	60,1	40,0	20,0		
20	387,2	382,4	356,2	330,1	304,1	278,3	252,6	227,0	201,5	176,0	150,5	125,3	100,0	74,9	49,9	24,9	
15	546,6	539,5	505,2	471,0	436,9	402,8	368,8	334,9	301,1	267,3	233,6	200,0	166,4	133,0	99,7	66,4	33,2
10	865,1	855,5	804,5	—	702,9	—	601,6	—	500,5	—	399,8	—	—	—	—	—	—

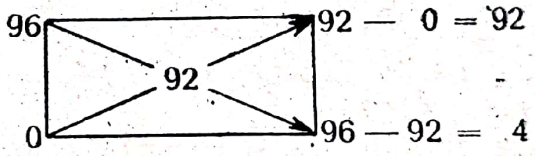
Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 43

Cantitatea de alcool metilic conținut (în g la %) în soluții de diferite densități

Densitatea g/cm³ (la 15°C)	CH_3OH g la %	Densitatea g/cm (la 15°C)	CH_3OH g la %	Densitatea g/cm (la 15°C)	CH_3OH g la %
0,997	1	0,947	34	0,880	68
0,995	2	0,944	36	0,875	70
0,992	4	0,941	38	0,870	72
0,989	6	0,937	40	0,865	74
0,985	8	0,934	42	0,860	76
0,982	10	0,930	44	0,855	78
0,979	12	0,926	46	0,850	80
0,977	14	0,922	48	0,845	82
0,974	16	0,919	50	0,840	84
0,971	18	0,915	52	0,835	86
0,968	20	0,910	54	0,829	88
0,965	22	0,906	56	0,824	90
0,963	24	0,902	58	0,818	92
0,960	26	0,898	60	0,813	94
0,957	28	0,893	62	0,807	96
0,954	30	0,889	64	0,801	98
0,951	32	0,884	66	0,796	100

unghiului, se scriu diferențele dintre concentrația soluțiilor inițiale și concentrația soluției pe care vrem să o obținem, scăzînd totdeauna cifra cea mai mică din cea mai mare.



Diferențele obținute pe aceeași orizontală reprezintă cantitățile de soluții, în grame, care trebuie luate pentru a obține soluția pe care vrem să o preparăm. Deci în cazul exemplificat, pentru a obține soluția de 92% alcool metilic, trebuie să se ia 92 g din soluția de alcool metilic de 96% și 4 g de apă distilată.

b) *Soluții de 90%, 85%, 50%*. Aceste soluții se prepară după regula amestecurilor, descrisă la punctul *a*.

12. APĂ OXIGENATĂ

a) *Soluție 3%*. Pentru prepararea acestei soluții se folosește perhidrol, care are o concentrație de aproximativ 30%. Înainte de prepararea soluției este necesar să se determine exact cantitatea de apă oxigenată care se găsește în perhidrol.

Pentru aceasta, se ia 1 ml de perhidrol și se diluează cu apă distilată pînă la 100 ml. Din această soluție se iau patru probe de cîte 20 ml în baloane Erlenmeyer, li se adaugă cîte 5 ml H_2SO_4 diluat (în patru

volume de apă distilată se toarnă cu precauţie un volum de H_2SO_4 cu $d = 1{,}84$) şi se titrează cu o soluţie de $KMnO_4$ 0,1 *n* (reactivul 50 *a*) pînă la apariţia culorii roz.

Calculul cantităţii de H_2O_2 se face în felul următor: Dacă pentru titrarea a 20 ml de soluţie H_2O_2 s-au consumat 36,12 ml de soluţie $KMnO_4$ 0,1 *n* (media a patru determinări), factorul soluţiei de permanganat fiind 0,9800, în realitate la 20 ml de soluţie H_2O_2 s-au folosit la titrare $36{,}12 \times 0{,}9800 = 35{,}4$ ml de soluţie $KMnO_4$ exact 0,1 *n*. Volumul soluţiei de permanganat folosit la titrare înmulţit cu titrul soluţiei de apă oxigenată 0,1 *n* ne va da cantitatea de H_2O_2 care se găseşte în 20 ml de soluţie diluată, respectiv în 0,2 ml de perhidrol. Pentru a afla titrul soluţiei de apă oxigenată 0,1 *n*, se porneşte de la greutatea moleculară a apei oxigenate, care este 34. Echivalentul-gram va fi $34 : 2 = 17$; deci într-o soluţie 0,1 *n* trebuie să se găsească 17 g H_2O_2 la litru, iar într-un mililitru 0,0017 g. Deci în 20 ml de soluţie diluată de apă oxigenată se vor găsi în cazul nostru $35{,}4 \times 0{,}0017 = 0{,}06018$ g H_2O_2. În 100 ml de apă oxigenată diluată (sau într-un mililitru de perhidrol luat la analiză) se vor găsi:

$$\frac{0{,}06018 \times 100}{20} = 0{,}3009 \text{ g } H_2O_2.$$

Ştiind deci că 1 ml de perhidrol conţine 0,3009 g H_2O_2, pentru prepararea unei soluţii de H_2O_2 3% trebuie să se calculeze în cîţi mililitri de perhidrol se găsesc 3 g H_2O_2. Calculul se face în modul următor:

Dacă 0,3009 g H_2O_2 se găsesc în 1 ml perhidrol

3 g H_2O_2 se vor găsi în x ml

$$x = \frac{3}{0{,}3009} = 9{,}97 \text{ ml perhidrol.}$$

Deci pentru prepararea soluţiei de 3% H_2O_2 se pune într-un balon cotat de 100 ml o cantitate de 9,97 ml de perhidrol (practic 10 ml) şi se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluţii 1,5%, 1%, 0,5%, 0,2% şi 0,1%*. Pentru pregătirea acestor soluţii este necesar să se determine, după procedeul descris la punctul *a*, cantitatea de H_2O_2, în grame, care se găseşte în 1 ml de perhidrol de la care se porneşte. Dacă, de exemplu, în 1 ml de perhidrol se găsesc *a* grame H_2O_2, cantitatea de perhidrol necesară pentru prepararea soluţiilor se află din relaţia $\frac{b}{a}$, în care *b* reprezintă cantitatea de H_2O_2, în grame, care trebuie să se găsească în 100 ml din soluţiile de preparat.

13. AZOTAT DE ARGINT

a) *Soluţie 0,1 n*. Se cîntăresc 16,989 g $AgNO_3$ şi se dizolvă într-un balon cotat de 1 l în apă distilată, după care se completează cu apă distilată pînă la semn. Soluţia se păstrează în sticlă învelită în hîrtie neagră.

b) *Soluție 0,01 n.* Se cîntăresc 1,6989 g $AgNO_3$ și se procedează ca la punctul *a*.

14. AZOTAT DE ARGINT AMONIACAL

Se dizolvă 5 g $AgNO_3$ în 95 ml de apă distilată și i se adaugă picătură cu picătură NH_4OH concentrat pînă cînd se dizolvă precipitatul format. Este important ca NH_4OH să nu fie în exces; de aceea, este bine ca să rămînă puțin precipitat în soluție, care apoi se înlătură prin filtrare. Se folosește totdeauna soluție proaspăt preparată.

15. AZOTAT DE ARGINT ÎN ACID AZOTIC

Se dizolvă 3 g $AgNO_3$ în puțină apă distilată, se adaugă 5 ml HNO_3 0,5 *n* și se completează cu apă distilată pînă la 100 ml. Soluția de HNO_3 0,5 *n* trebuie să conțină 31,51 g HNO_3 la litru (pentru preparare, v. procedeul de la reactivul 3 *a*).

16. AZOTAT DE CALCIU 0,7 M

Se cîntăresc 114,87 g $Ca(NO_3)_2$ sau 165,29 g $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ și se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l, după care se aduce la semn.

17. AZOTAT DE POTASIU 1 M

Se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l 101,11 g KNO_3 și se aduce cu apă distilată la semn.

18. BROMURĂ DE POTASIU 1 M

Se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l 119,01 g KBr și se completează cu apă distilată pînă la semn.

19. BRUCINĂ

Se dizolvă 0,2 g de brucină ($C_{23}H_{26}O_4N_2 + 4H_2O$) în 100 ml de acid sulfuric pur cu $d = 1,84$.

20. CLEI DE AMIDON

a) *Soluție 5%*. Se cîntăresc 5 g de amidon solubil și se agită bine într-un balon Erlenmeyer cu 20 ml de apă distilată rece. După aceea

Scanned with OKEN Scanner

se toarnă treptat peste 80 ml de apă distilată care fierbe, agitînd în acest timp cu o baghetă de sticlă. Soluția obținută se mai lasă să fiarbă 3—5 minute.

b) *Soluție 1%*. Se cîntărește 1 g de amidon solubil și se procedează ca la punctul *a*.

c) *Soluție 0,2%*. Se cîntăresc 0,2 g de amidon solubil și se procedează ca la punctul *a*.

b) *Soluție 0,1%*. Se cîntăresc 0,1 g de amidon solubil și se procedează ca la punctul *a*.

21. CLORAL HIDRAT

Se dizolvă 5 g de cloral hidrat în 2 ml de apă distilată și se adaugă 1—2 ml de soluție Lugol (reactiv 64).

22. CLORURĂ DE ALUMINIU

a) *Soluție 1 n.* Se cîntăresc 44,45 g $AlCl_3$ sau 80,48 g $AlCl_3 \cdot 6H_2O$, se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l și se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluție 0,1 n.* Se cîntăresc 4,445 g $AlCl_3$ sau 8,048 g $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ și se procedează ca la punctul *a*.

23. CLORURĂ DE CALCIU

a) *Soluție 1 n.* Se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l 55,495 g $CaCl_2$ sau 109,525 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ și se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluție 0,1 n.* Se cîntăresc 5,5495 g $CaCl_2$ sau 10,9525 g $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ și se procedează ca la punctul *a*.

24. CLORURĂ DE LITIU

a) *Soluție 2 M.* Se cîntăresc 84,80 g LiCl, se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l și se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluție 1 M.* Se cîntăresc 42,40 g LiCl și se procedează ca la punctul *a*.

25. CLORURĂ DE MAGNEZIU

Soluție 1 n. Se cîntăresc 47,62 g $MgCl_2$ sau 101,67 g $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ și se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l, după care se aduce cu apă distilată la semn.

Scanned with OKEN Scanner

26. CLORURĂ DE MANGAN

100 g $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ + 200 ml apă distilată.

27. CLORURĂ DE POTASIU

a) *Soluție 2 M.* Se cîntăresc 149,10 KCl și se dizolvă într-un balon cotat de 1 l în apă distilată, după care se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluție 1 M.* Se cîntăresc 74,55 g KCl și se procedează ca la punctul *a*.

c) *Soluție 0,1 n.* Se cîntăresc 7,455 g KCl și se procedează ca la punctul *a*.

28. CLORURĂ DE SODIU

a) *Soluție 2 M.* Se cîntăresc 116,91 g NaCl și se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l, după care se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluție 1 M.* Se cîntăresc 58,45 g NaCl și se procedează ca la punctul *a*.

29. CLORURĂ STANOASĂ

Se pun într-un balon cotat de 25 ml 0,25 g de staniu metalic fin mărunțit, 5 ml HCl ($d = 1,19$) și 2 picături de soluție de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 10%. Se închide balonul cu un dop prevăzut cu ventil Bunsen și se așază într-un pahar cu apă clocotindă. După dizolvarea staniului și răcirea soluției, se adaugă picătură cu picătură, agitînd, 2,5 ml de soluție de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 10%, se completează cu apă distilată pînă la semn și se agită.

30. COBALTNITRIT DE SODIU

a) Se dizolvă 25 g de azotat de cobalt $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ în 50 ml de apă distilată și se adaugă 12,5 ml de acid acetic glacial. Se păstrează în sticlă brună la rece.

b) Se dizolvă la cald 120 g de azotit de sodiu ($NaNO_2$) în 180 ml de apă distilată și se păstrează în sticlă brună la rece.

Cu o zi înainte de întrebuințare se amestecă o parte din reactivul *a* cu trei părți din reactivul *b* și se trece prin amestec aer timp de 1—2 ore (pentru îndepărtarea oxizilor de azot), după care se lasă să stea 5 ore. După aceea se filtrează. Păstrat în sticlă brună și la rece, reactivul poate fi folosit 3—4 zile.

Scanned with OKEN Scanner

31. COLODIU 4%

Se dizolvă 4 g de celoidină într-un amestec de alcool etilic și eter în proporție de 1 : 2, într-un balon cotat de 100 ml.

32. DIFENILAMINĂ ÎN ACID SULFURIC

Se dizolvă 0,1 g de difenilamină în 50 ml H_2SO_4 p.a. concentrat ($d = 1,84$).

33. FENOLFTALEINĂ 1%

Se dizolvă 1 g de fenolftaleină în 100 ml de alcool etilic 96%.

34. FEROCIANURĂ DE POTASIU

a) *Soluție 1 n.* Se cîntăresc 422,34 g $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ și se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l, după care se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluție 0,5 n.* Se cîntăresc 211,17 g $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ și se procedează ca la punctul *a*.

c) *Soluție* $^1/_8$ *n.* Se cîntăresc 52,79 g $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ și se procedează ca la punctul *a*.

d) *Soluție* $^1/_{16}$ *n.* Se cîntăresc 26,39 g $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ și se procedează ca la punctul *a*.

35. FUXINĂ PFEIFFER

Se amestecă într-un mojar 1 g de fuxină bazică și 5 g de fenol cristalizat cu 10 ml de alcool etilic 96% și se adaugă apoi apă distilată pînă la 100 ml. După ce se lasă în repaus o zi, se filtrează și se păstrează în sticlă cu dop rodat. Aceasta este fuxina Ziehl- Neelsen, din care, diluînd 10 ml cu apă distilată pînă la 100 ml, se obține fuxina Pfeiffer.

36. HEXANITROCUPRIAT DE SODIU ȘI PLUMB

Se acidulează 15 ml de apă distilată cu 0,2 ml de acid acetic 30% și se dizolvă în ea 2 g $NaNO_2$ (lipsit de potasiu), 0,9 g de acetat de cupru și 1,6 g de acetat de plumb. Reactivul trebuie preparat proaspăt, deoarece nu poate fi folosit decît 2—5 zile. Acidul acetic 30% se prepară după procedeul expus la reactivul 2 *a*, știind că această soluție trebuie să conțină 300 g CH_3—COOH la litru.

Scanned with OKEN Scanner

37. HIDROXID DE AMONIU

a) *Soluție 0,1 n.* Pentru prepararea acestei soluții trebuie să se ia 1,703 g NH_3. Întrucît soluția apoasă de amoniac poate să aibă concentrații diferite, este necesar să se cunoască densitatea sau concentrația în procente a soluției care servește la preparare. Dacă, de exemplu, soluția pe care o avem la dispoziție are densitatea 0,910 sau concentrația, în procente, 24,03 NH_3, atunci din tabelul 44 se constată

Tabelul 44

Greutatea specifică și conținutul în NH_3 al soluțiilor apoase de hidroxid de amoniu, la 20°C

Greutatea specifică	NH_3		Greutatea specifică	NH_3	
	% greut.	g/l		% greut.	g/l
0,998	0,047	0,463	0,938	15,47	145,10
0,996	0,512	5,10	0,936	16,06	150,32
0,994	0,977	9,70	0,934	16,65	155,51
0,992	1,43	14,19	0,932	17,24	160,67
0,990	1,89	18,71	0,930	17,85	166,01
0,988	2,35	23,21	0,928	18,45	171,21
0,986	2,82	27,81	0,926	19,06	176,49
0,984	3,30	32,47	0,924	19,67	181,74
0,982	3,78	37,11	0,922	20,27	186,88
0,980	4,27	41,85	0,920	20,88	192,10
0,978	4,76	46,55	0,918	21,50	197,37
0,976	5,25	51,24	0,916	22,12	202,62
0,974	5,75	56,01	0,914	22,75	207,94
0,972	6,25	61,75	0,912	23,39	213,32
0,970	6,75	65,48	0,910	24,03	218,67
0,968	7,26	70,28	0,908	24,68	224,09
0,966	7,77	75,05	0,906	25,33	229,49
0,964	8,29	79,91	0,904	26,00	235,04
0,962	8,82	84,85	0,902	26,67	240,56
0,960	9,34	89,66	0,900	27,33	245,97
0,958	9,87	94,55	0,898	28,00	251,44
0,956	10,40	99,42	0,896	28,67	256,88
0,954	10,95	104,47	0,894	29,33	262,21
0,952	11,49	109,39	0,892	30,00	267,60
0,950	12,03	114,29	0,890	30,68	273,05
0,948	12,58	119,25	0,888	31,37	278,56
0,946	13,14	124,31	0,886	32,09	284,31
0,944	13,71	129,42	0,884	32,84	290,30
0,942	14,29	134,61	0,882	33,59	296,26
0,940	14,88	139,87	0,880	34,35	302,28

că îi corespunde un conținut de 218,67 g NH_3 la 1 l. Cantitatea de soluție apoasă de amoniac care trebuie luată se calculează după raționamentul următor:

Dacă 218,67 g NH_3 se găsesc în 1 000 ml soluție apoasă

1,703 g NH_3 *se vor găsi în x ml*

$$x = \frac{1{,}703 \times 1\,000}{218{,}67} = 7{,}7 \text{ ml}$$

Scanned with OKEN Scanner

Deci pentru o soluție 0,1 *n* se iau într-un balon cotat de 1 l 7,7 ml de soluție apoasă de amoniac cu $d = 0{,}910$ și se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluție 10%*. Pentru prepararea acestei soluții trebuie să se ia 100 g NH_3 la litru. Deoarece soluția apoasă de amoniac poate avea concentrații diferite, este necesar să se cunoască densitatea sau concentrația soluției pe care o folosim la preparare. Dacă această soluție are densitatea 0,910, atunci, pe baza raționamentului de la punctul *a*, trebuia să se ia:

$$\frac{100 \times 1\,000}{218{,}67} = 457{,}3 \text{ ml soluție apoasă de amoniac, care se diluează}$$

într-un balon cotat cu apă distilată pînă la 1 l.

c) *Soluție 7%*. Se iau 320,1 ml de soluție apoasă de amoniac cu $d = 0{,}910$ și se completează cu apă distilată pînă la 1 l, într-un balon cotat. Dacă soluția de la care se pornește are altă densitate sau concentrație, se caută în tabelul 44 cantitatea de NH_3 (în g) pe care o conține într-un litru și, știind că soluția de preparat trebuie să conțină 70 g NH_3 la 1 l, se calculează cantitatea care trebuie luată după raționamentul expus la punctul *a*.

d) *Soluție 1%*. Se iau 45,7 ml de soluție apoasă de amoniac cu densitatea 0,910 și se completează cu apă distilată pînă la 1 l într-un balon cotat. Dacă soluția de la care se pornește are altă densitate, calcularea cantității de soluție care trebuie luată se face după raționamentul expus la punctul *a*, știind că soluția 1% trebuie să conțină 10 g NH_3 la litru.

38. HIDROXID DE BARIU n/50

Această soluție trebuie să conțină 3,155 g $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ la litru. Pentru preparare se cîntărește o cantitate de substanță cu ceva mai mare decît cea necesară (4 g $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ în loc de 3,155 g), deoarece o parte din hidroxid se poate carbonata în timpul pregătirii soluției. Se dizolvă substanța cîntărită plus 1 g $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ într-un litru de apă distilată, care a fost fiartă în prealabil, pentru a înlătura CO_2 dizolvat în ea, și se păstrează o zi într-o sticlă bine închisă, agitînd-o din timp în timp. După aceea se trece soluția limpede de deasupra prin sifonare într-un vas special de păstrare (fig. 239). Se recomandă să se prepare o cantitate mai mare, de exemplu 5 l.

Vasul de păstrare este format dintr-o sticlă prevăzută la partea superioară cu un dop prin care trec: un tub de sticlă lărgit la partea superioară, umplut cu calce sodată (pentru a împiedica pătrunderea CO_2 în vas), și două tuburi de sticlă, dintre care unul pătrunde pînă aproape de fundul vasului, iar celălalt este scurt (nu ajunge pînă la soluție). Aceste tuburi se pun în legătură prin intermediul a două tuburi de cauciuc cu o biuretă prevăzută la capătul inferior cu un tub de sticlă

Scanned with OKEN Scanner

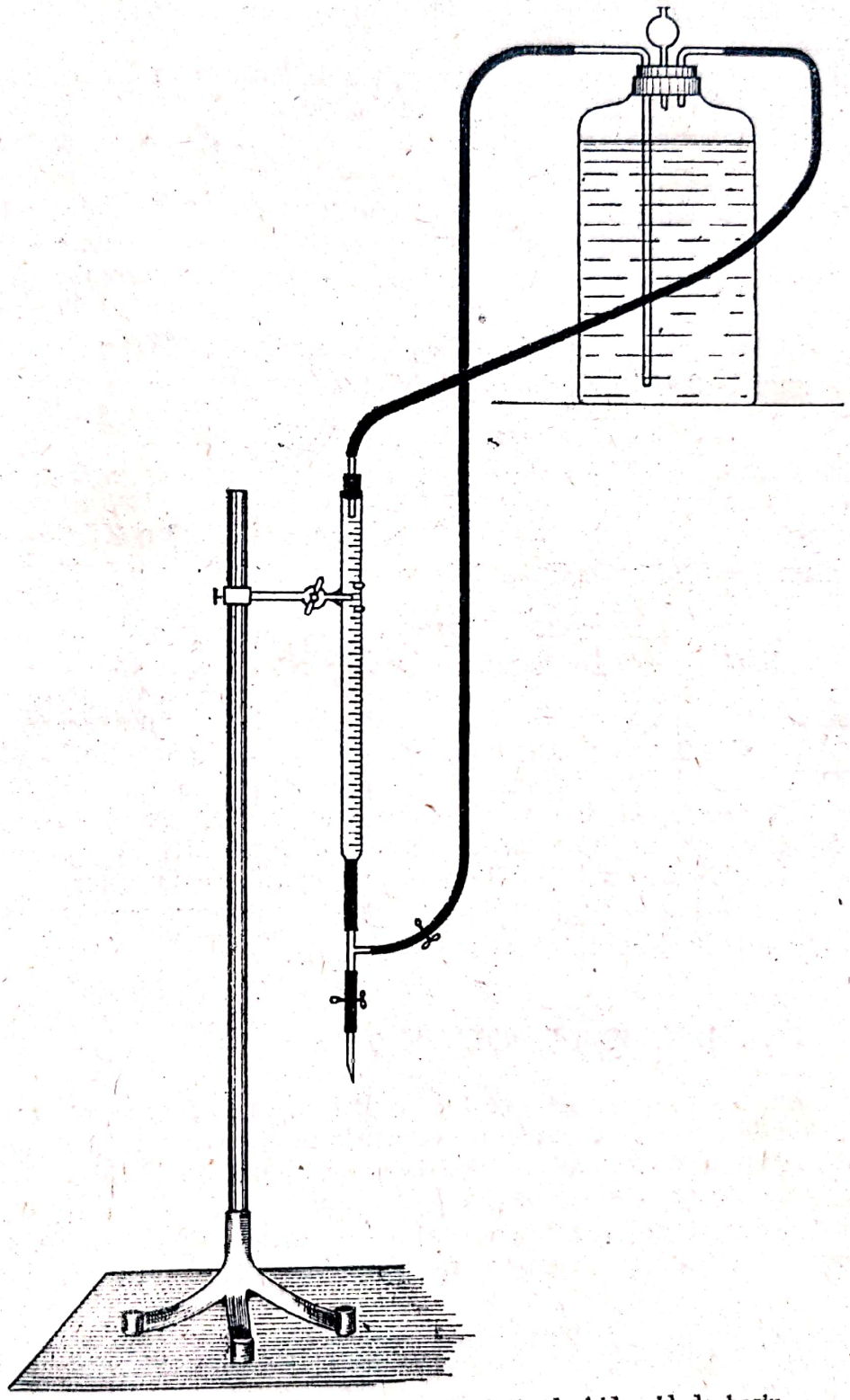


Fig. 239. Vas de păstrare pentru soluția de hidroxid de bariu.

Scanned with OKEN Scanner

în formă de T. Acest mod de păstrare permite luarea cantităţilor de soluţie necesare, fără ca soluţia din vas să vină în contact cu CO_2 din atmosferă.

În cazul cînd nu avem la dispoziţie hidroxid de bariu, soluţia se poate prepara din KOH şi $BaCl_2$, după ecuaţia:

$$2KOH + BaCl_2 = 2KCl + Ba(OH)_2$$

Ştiind că pentru prepararea unei cantităţi de 1 l de soluţie $Ba(OH)_2$ *n*/50 trebuie să se cîntărească 3,155 g $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$, calcularea cantităţilor de $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ şi KCl necesare se face prin următoarele raţionamente:

a) Dacă la 315,5 g $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ corespund 244,4 g $BaCl_2 \cdot 2H_2O$, *atunci la 3,155 g* $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ *vor corespunde x g* $BaCl_2 \cdot 2H_2O$

$$x = \frac{244,4 \times 3,155}{315,5} = 2,444 \text{ g } BaCl_2 \cdot 2H_2O$$

b) Dacă la 244,4 g $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ corespund 112,22 g KOH, *atunci la 2,444 g* $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ *vor corespunde x g* KOH

$$x = \frac{112,22 \times 2,444}{244,4} = 1,1222 \text{ g KOH}$$

Deci pentru prepararea soluţiei trebuie să se cîntărească 2,444 g $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ şi 1,222 g KOH. Practic însă se iau 3,5 g $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ şi 1,5 g KOH, care se dizolvă într-un litru de apă distilată, agitînd soluţia din cînd în cînd. După dizolvare se lasă soluţia 24 de ore într-o sticlă bine închisă, ca să se limpezească, iar după limpezire se decantează şi se trece prin sifonare soluţia limpede în vasul de păstrare.

Factorul soluţiei se stabileşte prin titrare cu HCl *n*/50 (reactivul 4 *c*), în prezenţa fenolftaleinei (reactivul 33).

39. HIDROXID DE POTASIU 0,1 n

Pentru prepararea acestei soluţii se cîntăresc aproximativ 6 g KOH (în loc de 5,61 g, cît ar trebui pentru o soluţie exact 0,1 *n*), deoarece substanţa conţine de obicei o cantitate oarecare de K_2CO_3. Soluţia se prepară la fel ca soluţia de NaOH (reactivul 42).

Titrul soluţiei se verifică cu ajutorul unei soluţii de acid oxalic 0,1 *n* (reactivul 6 *a*), în prezenţa fenolftaleinei (reactivul 33).

40. HIDROXID DE POTASIU SOLUŢIE ALCOOLICĂ

Se dizolvă 20 g KOH în alcool etilic 40% (pentru preparare, v. procedeul expus la reactivul 10 *a*).

Scanned with OKEN Scanner

41. HIDROXID DE POTASIU – SOLUȚIE SATURATĂ IN ALCOOL METILIC

La 100 ml alcool metilic se adaugă KOH (in rotulis) pînă cînd nu se mai dizolvă. Se folosește soluția limpede de deasupra.

42. HIDROXID DE SODIU 0,1 n

Deoarece hidroxidul de sodiu conține adeseori o cantitate oarecare de Na_2CO_3, la prepararea soluției acesta trebuie să fie îndepărtat. În acest scop se cîntărește o cantitate mai mare de substanță (aproximativ 4,5 g în loc de 4,001 g) și se dizolvă în apă distilată fiartă și răcită în prealabil, pentru îndepărtarea CO_2. Se adaugă după aceea o cantitate mică dintr-o soluție pură de $BaCl_2$ 10%. Se formează un precipitat de carbonat de bariu, care se lasă să se depună. După depunerea precipitatului, soluția limpede de NaOH de deasupra se trece prin sifonare într-un balon cotat de 1 l și se completează pînă la semn cu apă distilată lipsită de CO_2. Prezența cantităților mici de $BaCl_2$ și NaCl nu influențează asupra titrului soluției.

Verificarea titrului soluției se face cu acid oxalic 0,1 *n* (reactivul 6 *a*) în prezența fenolftaleinei (reactivul 33).

43. IOD CU CLORURĂ MERCURICĂ

Soluția I. 2,5 g iod + 50 ml alcool etilic 96%.

Soluția II. 3 g $HgCl_2$ + 50 ml alcool etilic 96%.

În momentul întrebuințării, soluțiile I și II se amestecă în volume egale.

44. IODOCLORURĂ DE ZINC

25 g $ZnCl_2$ + 8 g KI + 8,5 ml apă distilată + circa 1 g iod (cît se dizolvă). Se păstrează în sticlă învelită cu hîrtie neagră.

45. IODURĂ DE POTASIU

a) *Soluție 1 M.* Se cîntăresc 166,00 g KI și se dizolvă într-un balon cotat de 1 l în apă distilată, după care se completează cu apă distilată pînă la semn.

b) *Soluție 0,01 n.* Se cîntăresc 1,66 g KI și se procedează ca la punctul *a*.

46. IODURĂ DE POTASIU ÎN HIDROXID DE SODIU

40 g NaOH + 20 g KI + 80 ml apă distilată.

47. MOLIBDAT DE AMONIU ÎN ACID SULFURIC

Se amestecă volume egale dintr-o soluție de molibdat de amoniu 10% și acid sulfuric concentrat ($d = 1,84$).

48. MORINĂ

Se cîntăresc 2 g de morină (tetraoxiflavonol) și se dizolvă în alcool etilic într-un balon cotat de 100 ml.

49. OXALAT DE AMONIU, SOLUȚIE SATURATĂ

Se dizolvă 40 g $(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$ în apă distilată și se completează cu apă distilată pînă la semn, într-un balon cotat de 1 l.

50. PERMANGANAT DE POTASIU

a) *Soluție 0,1 n.* Se cîntăresc 3,2 g $KMnO_4$ și se dizolvă într-un balon cotat de 1 l în apă distilată, după care se completează cu apă distilată pînă la semn. Se agită bine soluția și se lasă la temperatura camerei 8—10 zile, după care se filtrează printr-un filtru de azbest, creuzet filtrant sau se decantează cu atenție lichidul limpede. Soluția se păstrează în sticlă brună la întuneric.

În cazul cînd se folosește la dizolvarea substanței apă distilată fiartă și dizolvarea se face în apa caldă încă, stabilizarea soluției se face mai repede și poate fi folosită în ziua următoare.

Titrul soluției se schimbă treptat și din această cauză trebuie să fie controlat periodic prin titrare cu acid oxalic exact 0,1 *n* (reactiv 6 *a*).

Pentru titrare se iau în 4 baloane Erlenmeyer cîte 25 ml de soluție de acid oxalic 0,1 *n*, se adaugă în fiecare balon cîte 5 ml H_2SO_4 diluat (în 4 volume de apă distilată se toarnă cu precauție 1 volum de acid sulfuric cu $d = 1,84$) și după ce se încălzește conținutul baloanelor pînă la 70—80°C se titrează cu soluție de $KMnO_4$ pînă la apariția culorii roz, care persistă un minut.

Factorul soluției de $KMnO_4$ se calculează după formula:

$$\frac{\text{ml acid oxalic 0,1 } n}{\text{ml } KMnO_4}$$

b) *Soluție 0,05 n.* Se cîntăresc 1,6 g $KMnO_4$ și se prepară soluția după indicațiile menționate la punctul *a*.

Stabilirea factorului se face cu acid oxalic exact 0,05 *n* (reactiv 6 *b*) după indicațiile menționate la punctul *a*.

51. PIROGALOL

Se dizolvă 40 g de pirogalol în 90 ml de apă distilată proaspăt fiartă. Soluția se ține în sticlă bine închisă. Nu se poate păstra decît un timp scurt; se brunifică repede. În momentul întrebuințării i se adaugă 45 ml de soluție KOH 33%.

52. REACTIV BARFOED

Se iau 5 g acetat de cupru + 5 g acetat de sodiu + 0,5 ml acid acetic glacial + 100 ml apă distilată.

53. REACTIV MAYER

Se dizolvă 1 g $HgCl_2$ în 50 ml de apă distilată și se amestecă cu o soluție preparată prin dizolvarea a 4 g KI în 50 ml de apă distilată.

54. REACTIV MILLON

Se dizolvă la rece 10 g de mercur metalic în 20 ml de acid azotic concentrat ($d = 1,33$). Soluția obținută se diluează cu un volum dublu de apă distilată, se agită și eventual se decantează după o zi.

55. REACTIV „NADI"

Se amestecă 10 ml de soluție apoasă 1% de *N*-dimetil-para-fenilen-diamină cu 10 ml de soluție alcoolică 1% de α-naftol și cu 10 ml de soluție apoasă 1,5% Na_2CO_3, imediat înainte de folosire, deoarece reactivul nu este stabil.

56. REACTIV NESSLER

Se dizolvă 20 g KI în 50 ml de apă distilată și se adaugă treptat aproximativ 32 g HgI_2 (pînă la saturare). După aceea se amestecă cu 460 ml de apă, care conține 134 g KOH. După depunerea precipitatului, soluția se decantează și se păstrează în sticlă de culoare brună.

Scanned with OKEN Scanner

57. REACTIV WAGNER

Se dizolvă 5 g de iod într-o soluție pregătită în prealabil prin dizolvarea a 10 g KI în 20 ml de apă distilată. După dizolvare se mai adaugă 80 ml de apă distilată.

58. REACTIV ZIEHL

Se dizolvă 1 g de fuxină bazică în 10 ml de alcool etilic 96°.

59. ROȘU MAGDALA, SOLUȚIE 1/10 000

Se dizolvă la cald 0,01 g de substanță în apă distilată, și după răcire se aduce cu apă distilată la un volum de 100 ml în balon cotat.

60. ROȘU DE METIL

Se dizolvă 0,02 g de substanță în 60 ml de alcool etilic 96% și se diluează cu apă distilată pînă la un volum de 100 ml într-un balon cotat.

61. SOLUȚIE BERTRAND

a) *Bertrand I.* Se dizolvă 40 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ în apă distilată într-un balon cotat de 1 000 ml și se aduce la semn.

b) *Bertrand* II. Se dizolvă în 500 ml de apă distilată 200 g de sare Seignette (tartrat dublu de sodiu și potasiu) și 150 g NaOH, iar după dizolvare se aduce la un volum de 1 000 ml în balon cotat.

c) *Bertrand III.* Se dizolvă 50 g de sulfat feric pur în apă distilată, se adaugă 200 g (108,7 ml) acid sulfuric concentrat ($d = 1,84$) și după răcire se completează cu apă distilată într-un balon cotat de 1 l pînă la semn. Soluția ferică astfel pregătită nu trebuie să reducă permanganatul de potasiu; de aceea, înainte de întrebuințare i se adaugă, picătură cu picătură, permanganat de potasiu 0,1 *n* (reactivul 50 *a*) pînă cînd acesta nu se mai decolorează și soluția ferică devine slab roză.

62. SOLUȚIE ETALON DE KH_2PO_4

Conține 0,000003 g P_2O_5 la 1 ml. Se dizolvă 0,2875 g KH_2PO_4 într-un litru de apă distilată. Din această soluție se iau 20 ml și se diluează pînă la 1 l, pentru a obține soluția care se folosește.

63. SOLUȚIE FEHLING

a) *Fehling I.* Se dizolvă în 500—600 ml de apă distilată 70 g de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ și după aceea se aduce la un volum de 1 000 ml în balon cotat.

b) *Fehling II.* În 500 ml de apă distilată se dizolvă 346 g de sare Seignette (tartrat dublu de sodiu și potasiu) și 104 g NaOH, iar după răcire se aduce la volum de 1 000 ml în balon cotat.

64. SOLUȚIE LUGOL (iod iodurat)

Se dizolvă 4 g de iodură de potasiu în 10 ml de apă distilată. În soluția obținută se dizolvă 1 g de iod și după aceea se adaugă 290 ml de apă distilată.

65. SOLUȚII–TAMPON SÖRRENSEN

Pentru pregătirea soluțiilor-tampon de un anumit *p*H se folosesc o soluție de $Na_2H\ PO_4 \frac{M}{15}$ și o soluție de $KH_2PO_4\ \frac{M}{15}$. Cu aceste soluții se pot realiza valori ale *p*H-ului cuprinse între 4,94 și 9,18 prin amestecarea lor în cantitățile menționate în tabelul 45.

Soluția de $Na_2HPO_4 \frac{M}{15}$ se prepară dizolvînd în apă distilată într-un balon cotat de 1 l 11,867 g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ sau 23,88 g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, iar soluția de $KH_2PO_4 \frac{M}{15}$ se prepară prin dizolvarea a 9,078 g KH_2PO_4 în apă distilată într-un balon cotat de 1 l. Se recomandă ca la prepararea soluțiilor să se folosească apă distilată, care a fost fiartă în prealabil (lipsită de CO_2).

În cazul în care este necesar să se realizeze un *p*H a cărui valoare nu este trecută în tabel, cantitățile de soluție care trebuie luate se calculează prin interpolare.

Tabelul 4

Soluțiile-tampon Sörrensen

*p*H	Soluție Na_2HPO_4 $\frac{M}{15}$ ml	Soluție KH_2PO_4 $\frac{M}{15}$ ml
4,94	1,0	99,0
5,29	2,5	97,5
5,59	5,0	95,0
5,91	10,0	90,0
6,24	20,0	80,0
6,47	30,0	70,0
6,64	40,0	60,0
6,81	50,0	50,0
6,98	60,0	40,0
7,17	70,0	30,0
7,38	80,0	20,0
7,73	90,0	10,0
8,04	95,0	5,0
8,34	97,5	2,5
8,68	99,0	1,0
9,18	100,0	0,0

Scanned with OKEN Scanner

66. SOLUȚII–TAMPON WARBURG

Pentru pregătirea acestor soluții se folosesc soluții 0,1 *M* de Na_2CO_3 și $NaHCO_3$. Soluția de Na_2CO_3 0,1 *M* se prepară dizolvînd în apă distilată într-un balon de 1 l 10,600 g Na_2CO_3, iar soluția de $NaHCO_3$ 0,1 *M* se prepară dizolvînd în apă distilată într-un balon cotat de 1 l 8,402 g $NaHCO_3$. Pentru prepararea soluțiilor-tampon Warburg se amestecă aceste soluții în proporțiile menționate în tabelul 46.

Tabelul 46

Soluțiile-tampon Warburg, la 25°C

Nr. soluției	Soluție Na_2CO_3 0,1 *M* ml	Soluție $NaHCO_3$ 0,1 *M* ml	Conținutul în milimoli Na	Conținutul în CO_2			pH-ul soluției
				în soluție mol/l	în aer		
					mol/l	mg/l	
1	85	15	185	$0{,}53.10^{-6}$	$0{,}64.10^{-6}$	0,03	10,42
2	80	20	180	1,0 ,,	1,2 ,,	0,05	10,30
3	75	25	175	1,7 ,,	2,0 ,,	0,09	10,19
4	70	30	170	2,6 ,,	3,1 ,,	0,13	10,10
5	60	40	160	5,3 ,,	6,4 ,,	0,28	9,93
6	50	50	150	9,8 ,,	11,8 ,,	0,52	9,79
7	35	65	135	23 ,,	27 ,,	1,20	9,51
8	25	75	125	43 ,,	52 ,,	2,30	9,32
9	15	85	115	91 ,,	110 ,,	4,85	9,08
10	10	90	110	150 ,,	180 ,,	7,90	8,91
11	5	95	105	330 ,,	400 ,,	17,6	8,69

67. SOLUȚIE SCHWEIZER

Se prepară o soluție concentrată (circa 20%) de sulfat de cupru și i se adaugă o soluție de KOH 5% pentru a se obține un precipitat abundent. Precipitatul se spală de mai multe ori cu apă distilată prin decantare și după aceea se stoarce într-o pînză curată pentru a înlătura prisosul de apă. Se pune apoi precipitatul într-o capsulă de porțelan și se dizolvă într-o cantitate minimă de amoniac concentrat, care se adaugă picătură cu picătură, amestecînd în acest timp cu bagheta. Soluția azurie-închis care se obține se filtrează la nevoie prin vată de sticlă. Se folosește numai soluție proaspăt preparată.

68. SOLUȚIE STANDARD PENTRU TITRARE

Se amestecă 60 ml $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ 0,1 *n* (peparat prin dizolvarea a 19,072 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ în apă distilată care se aduce la un volum de 1 l la balon cotat) cu 40 ml de soluție HCl 0,1 *n* (reactivul 4 *b*) și se adaugă 2—3 picături de fenolftaleină 1% (reactivul 33). Soluția va căpăta o culoare roz, care va servi ca etalon la titrări.

69. SULFAT DE CUPRU

a) *Soluție saturată.* Se dizolvă în 100 ml de apă distilată 31,6 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ sau 20,7 g $CuSO_4$.

b) *Soluție 1,5 n.* Se cîntăresc 187,29 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ sau 119,73 g $CuSO_4$ și se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l, după care se completează cu apă distilată pînă la semn.

c) *Soluție 1 n.* Se cîntăresc 124,86 g $CuSO \cdot 5H_2O$ sau 79,82 g $CuSO_4$ și se procedează ca la punctul *b*.

d) *Soluție 0,5 n.* Se cîntăresc 62,43 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ sau 39,91 g $CuSO_4$ și se procedează ca la punctul *b*.

e) *Soluție 0,2 n* ($^1/_5$ *n*). Se cîntăresc 24,972 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ sau 15,964 g $CuSO_4$ și se procedează ca la punctul *b*.

70. SULFAT DE SODIU, SOLUȚIE SATURATĂ

Se dizolvă 165 g $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$ într-un litru de apă distilată.

71. TIOCIANAT DE POTASIU 1 M

Se cîntăresc 97,18 g KSCN și se dizolvă în apă distilată într-un balon cotat de 1 l, după care se completează pînă la semn.

72. TIOSULFAT DE SODIU 0,01 n

Se cîntăresc cu precizie 2,481 g $Na_2S_2O_3$ și se dizolvă într-un balon cotat de 1 l în puțină apă distilată care a fost fiartă și răcită în prealabil. Se adaugă 0,2 g Na_2CO_3 anhidru și 10 ml alcool amilic, după care se completează cu apă distilată (fiartă și răcită) pînă la semn.

Factorul soluției se face cu ajutorul unei soluții de bicromat de potasiu 0,01 *n* (se cîntăresc exact 0,4903 g $K_2Cr_2O_7$ și se dizolvă într-un balon cotat de 1 l în aproximativ 500 ml de apă distilată, iar după dizolvare se completează cu apă distilată pînă la semn). Se pun în 4 baloane Erlenmeyer cîte 20 ml din soluția de bicromat de potasiu pregătită, se adaugă cîte 1,2 g KI cristalizat, 80 ml de apă distilată și 10 ml H_2SO_4 10% (reactivul 8 *h*). Se agită, se lasă să stea în repaus 15 minute, pentru ca, în urma reacției dintre bicromatul de potasiu și KI, să se pună în libertate iodul, și se titrează apoi iodul rezultat cu soluția de tiosulfat. În momentul cînd lichidul din balonul Erlenmeyer ajunge la culoarea galbenă-deschis, se adaugă cîteva picături de clei de amidon

0,2% (reactivul 20 c), care va colora lichidul în albastru, iar după aceea se continuă titrarea, pînă la decolorarea lichidului (mai exact de la culoarea albastră-închis pînă la albastră foarte deschis).

Factorul soluției de tiosulfat se calculează după formula:

$$F\ Na_2S_2O_3 = \frac{20 \times 1}{N},$$

în care:

20 reprezintă numărul de mililitri de soluție $K_2Cr_2O_7$ luați la titrare;

1 — factorul soluției de $K_2Cr_2O_7$;

N — numărul de mililitri de soluție de tiosulfat de sodiu folosit la titrare (media celor patru titrări).

73. ZAHAROZĂ

a) *Soluție 2 M.* Se cîntăresc 684,36 g de zaharoză și se dizolvă într-un balon cotat de 1 l în apă distilată, după care se completează pînă la semn.

b) *Soluție 1,5 M.* Se cîntăresc 513,27 g de zaharoză și se procedează ca la punctul *a.*

c) *Soluția 1 M.* Se cîntăresc 342,18 g de zaharoză și se procedează ca la punctul *a.*

d) *Soluția 0,5 M.* Se cîntăresc 171,09 g de zaharoză și se procedează ca la punctul *a.*

e) *Soluție 0,3 M.* Se cîntăresc 102,65 g de zaharoză și se procedează ca la punctul *a.*

f) *Soluție 0,25 M.* Se cîntăresc 85,54 g de zaharoză și se procedează ca la punctul *a.*

BIBLIOGRAFIE

1. Brugovitzky, E., *Növényélettani vizsgálatok*, Bukarest, Mezőgazdasági és Erdészeti Állami Könyvkiadó, 1957.
2. Crasovschi, N. P., *Chimie analitică*, București, Editura tehnică, 1952.
3. * * * *Himiceskie reactivi i preparati (Spracovinik)*, Moskva, Leningrad, Gosudarstvennoe nacinotehniceskoe izdateltsvo himiceskoi literaturî, 1953.
4. Ivanov, N. N., *Metodi fiziologhii i biohimii rastenii*, Moskva—Leningrad, Oghiz-Selhozghiz, 1946.
5. * * * *Kratkii sparvocinik himika*, Moskva—Leningrad, Gosudartsvennoe naucinotehniceskoe izdatelstvo himiceskoi literaturî, 1951.

Scanned with OKEN Scanner

6. Landolt—Börnstein, *Physikalische-Chemische Tabellen*, Berlin, Julius Springer, 1905.
7. Löbel, M., Juvara, A., *Îndrumătorul chimistului*, București, Editura tehnică, 1960.
8. * * * *Manualul chimistului*, vol. I și II, București, AGIR, 1948.
9. Perelman, W. I., *Taschenbuch der Chemie*, Berlin Web Deutscher Verlag der Wissenschaften, 1960.
10. Peterburgski, A. V., *Manual de lucrări practice la chimia agricolă*, București, Editura agro-silvică de stat, 1954.
11. Pincovschi, E., Tonca, E., *Îndrumătorul laborantului chimist*, București, Editura tehnică, 1962.
12. Skazkin, F. D., Lovcinovskaia, E. I., Krasnoselskaia, T. A., Miller, M. S., Anikiev, V. V., *Praktikum po fiziologhii rastenii*, Moskva, Sovetskaia nauka, 1953.
13. * * * *Tabele de calcul în chimia analitică*, București, Editura tehnică, 1961 (traducere din limba maghiară)

TABLA DE MATERIE

Prefață 3

Cap. I. **FENOMENE FIZICO-CHIMICE ȘI FIZIOLOGICE LEGATE DE METABOLISMUL CELULAR** 5

A. **Studiul experimental al soluțiilor coloidale** 5

Experiența nr. 1. Prepararea solului (soluției coloidale) de AgI 6
Experiența nr. 2. Prepararea și precipitarea solului de colofoniu 6
Experiența nr. 3. Dializa 7
Experiența nr. 4. Coacervarea 7

B. **Adsorbția** 8

Experiența nr. 5. Adsorbția $Pb(NO_3)_2$ pe praful de cărbune 8
Experiența nr. 6. Adsorbția violetului de metil de către sol 9
Experiența nr. 7. Adsorbția albastrului de metilen și a eozinei de către gelurile coloidale 9
Experiența nr. 8. Adsorbția și eluțiunea 9

C. **Imbibiția** 10

Experiența nr. 9. Punerea în evidență a caracteristicilor imbibiției prin experiența Coupin 10
Experiența nr. 10. Emisiunea de energie în fenomenul de imbibiție 11
Experiența nr. 11. Imbibiția afizotropă 12
Experiența nr. 12. Influența electroliților asupra procesului de imbibiție . . . 13

D. **Difuziunea** 15

Experiența nr. 13. Difuziunea cristaloidelor în apă 15
Experiența nr. 14. Viteza de difuziune a ionilor în geluri coloidale 15
Experiența nr. 15. Difuziunea cristaloidelor și coloidelor în geluri coloidale 16
Experiența nr. 16. Difuziunea în geluri de diferite densități 17

E. **Osmoza** 17

1. *Osmoza prin membrane permeabile* 18

Experiența nr. 17. Osmometrul Dutrochet 18
Experiența nr. 18. Osmometrul cu membrană de colodiu 18
Experiența nr. 19. Verificarea legilor osmozei 19

Scanned with OKEN Scanner

2. *Osmoza prin membrane semipermeabile* 20
Experienţa nr. 20. Celula artificială a lui Traube 20
Experienţa nr. 21. Osmometrul Pfeffer 21
Experienţa nr. 22. Pregătirea de membrane semipermeabile rezistente 22
Experienţa nr. 23. Osmoza negativă 23

F. **Celula vegetală ca sistem coloidal şi osmotic** 24

1. *Tehnica cercetării microscopice a celulelor şi ţesuturilor vii* 24
Experienţa nr. 24. Observarea celulelor vii şi moarte în cîmp microscopic luminos 27
Experienţa nr. 25. Observarea celulelor vii şi moarte în cîmp microscopic întunecos 30
Experienţa nr. 26. Observarea celulelor vii şi moarte în contrast de fază . . . 30
Experienţa nr. 27. Nucleul viu în stare de repaus 32

2. *Studiul plasmolizei şi turgescenţei* 36
Experienţa nr. 28. Hipotonie, izotonie şi hipertonie 36
Experienţa nr. 29. Plasmoliza şi deplasmoliza, forme şi timp 37
Experienţa nr. 30. Influenţa electroliţilor asupra formei şi timpului de plasmoliză 37
Experienţa nr. 31. Plasmoliza unilaterală 39
Experienţa nr. 32. Plasmoliza sistrofică 39
Experienţa nr. 33. Citoriza ca urmare a impermeabilităţii membranei pentru plasmolitic 41
Experienţa nr. 34. Substanţe osmotic active şi osmotic inactive 41
Experienţa nr. 35. Determinarea concentraţiei sucului vacuolar prin metoda refractometrică 41
Experienţa nr. 36. Măsurarea presiunii osmotice cu ajutorul soluţiilor izotonice (metoda Hugo de Vries) 43
Experienţa nr. 37. Determinarea presiunii osmotice prin metoda crioscopică . . 43
Experienţa nr. 38. Măsurarea forţei de sucţiune a celulelor din parenchimul de cartof (metoda G. E. Pringsheim) 46
Experienţa nr. 39. Determinarea forţei de sucţiune a ţesuturilor vegetale cu ajutorul refractometrului (metoda Arţihovski) 47
Experienţa nr. 40. Determinarea forţei de sucţiune a ţesuturilor vegetale prin metoda curenţilor (metoda Şardakov) 48

3. *Permeabilitatea celulară* 48
Experienţa nr. 41. Semipermeabilitatea structurilor vegetale vii 48
Experienţa nr. 42. Colorarea vitală a celulelor stomatice de *Tradescantia* . . . 49
Experienţa nr. 43. Influenţa electroliţilor asupra permeabilităţii celulelor vii. Influenţa cationilor K^+, Ca^{++} şi Al^{+++} 50
Experienţa nr. 44. Permeabilitatea celulelor vii pentru acizii slabi şi tari şi pentru bazele slabe şi tari 50
Experienţa nr. 45. Plasmoptiza celulelor de *Spirogyra* în alcool 52
Bibliografie 52

Cap. II. **REGIMUL DE APĂ A PLANTELOR** 54

1. *Apa din plante* 54
Experienţa nr. 46. Punerea în evidenţă a prezenţei apei în corpul plantelor 54
Experienţa nr. 47. Determinarea cantităţii de apă şi de substanţă uscată din plante 54

Scanned with OKEN Scanner

2. *Apa din sol* 56

Experienţa nr. 48. Punerea în evidenţă a apei existente în sol 56
Experienţa nr. 49. Punerea în evidenţă a prezenţei aerului în sol 56
Experienţa nr. 50. Punerea în evidenţă a ascensiunii capilare 57
Experienţa nr. 51. Punerea în evidenţă a permeabilităţii solului 57
Experienţa nr. 52. Determinarea higroscopicităţii solului 58
Experienţa nr. 53. Determinarea umidităţii solului (a substanţei uscate) . . . 59
Experienţa nr. 54. Determinarea capacităţii minime pentru apă a solului . . . 60
Experienţa nr. 55. Determinarea capacităţii totale pentru apă a solului . . . 62
Experienţa nr. 56. Determinarea puterii de reţinere a apei de către sol (metoda Stocker) 63
Experienţa nr. 57. Determinarea directă a coeficientului de veştejire (după I. S. Dolgov) 66

3. *Absorbţia apei de către plante* 67

Experienţa nr. 58. Observarea macro- şi microscopică a perilor absorbanţi . . . 67
Experienţa nr. 59. Determinarea cantităţii de apă absorbită prin rădăcini . . . 68
Experienţa nr. 60 Stabilirea zonei de absorbţie a apei la rădăcini 69
Experienţa nr. 61. Absorbţia apei la plantele submerse 70
Experienţa nr. 62. Absorbţia apei prin frunze 70

4. *Emisiunea apei de către plante* 72

a. *Transpiraţia* 72

Experienţa nr. 63. Punerea în evidenţă a transpiraţiei 72
Experienţa nr. 64. Determinarea intensităţii transpiraţiei cu ajutorul potometrelor 73
Experienţa nr. 65. Determinarea intensităţii transpiraţiei prin metoda colorimetrică (metoda Stahl) 75
Experienţa nr. 66. Determinarea intensităţii transpiraţiei prin metoda Garreau 76
Experienţa nr. 67. Determinarea intensităţii transpiraţiei prin metoda gravimetrică 78
Experienţa nr. 68. Determinarea intensităţii transpiraţiei cu ajutorul balanţei de torsiune (metoda de moment a lui L. A. Ivanov) 79

b. *Gutaţia* 80

Experienţa nr. 69. Punerea în evidenţă a gutaţiei 81

5. *Circulaţia apei în corpul plantelor* 82

Experienţa nr. 70. Punerea în evidenţă a căilor de conducere a apei în corpul plantelor 82

6. *Forţele care contribuie la ascensiunea apei în corpul plantelor* 84

Experienţa nr. 71. Punerea în evidenţă a presiunii radicale 84
Experienţa nr. 72. Punerea în evidenţă a rolului transpiraţiei în conducerea apei în corpul plantelor 85
Experienţa nr. 73. Punerea în evidenţă a rolului tensiunii vaporilor de apă şi a coeziunii apei în conducerea acesteia (experienţa lui Askenasy) 86
Experienţa nr. 74. Punerea în evidenţă a rolului forţei de sucţiune a frunzelor în conducerea apei în corpul plantelor (experienţa lui Dixon) 87

Scanned with OKEN Scanner

7. *Bilanțul de apă al plantelor și rezistența plantelor la secetă* 87
Experiența nr. 75. Bilanțul de apă al plantelor 87
Experiența nr. 76. Determinarea rezistenței plantelor la secetă prin metoda veștejirii (metoda lui I. I. Tumanov) 88
Bibliografie 91

Cap. III. **NUTRIȚIA MINERALĂ A PLANTELOR** 92

A. **Compoziția chimică a plantelor** 92

1. *Studiul cenușii* 92
Experiența nr. 77. Determinarea cantității de cenușă 92
Experiența nr. 78. Alcalinitatea cenușii 93

a. *Punerea în evidență a elementelor solubile în apă* 94
Experiența nr. 79. Potasiul 94
Experiența nr. 80. Sodiul 95
Experiența nr. 81. Clorul 95

b. *Punerea în evidență a elementelor solubile în acizi și a sulfaților și carbonaților* 95
Experienta nr. 82. Fierul 96
Experiența nr. 83. Aluminiul 96
Experiența nr. 84. Calciul 96
Experiența nr. 85. Magneziul 97
Experiența nr. 86. Sulfații 97
Experiența nr. 87. Carbonații 98
Experiența nr. 88. Manganul 98
Experiența nr. 89. Fosforul 99

c. *Punerea în evidență a elementelor insolubile* 99
Experiența nr. 90. Siliciul 99

2. *Punerea în evidență a unor elemente minerale din țesuturile vegetale* 99
Experiența nr. 91. Punerea în evidență a fierului pe cale histochimică 99
Experiența nr. 92. Aluminiul 100
Experiența nr. 93. Calciul 100
Experiența nr. 94. Clorul 101
Experiența nr. 95. Iodul organic 101
Experiența nr. 96. Punerea în evidență a azotului nitric, nitros, amoniacal și amidic 102

B. **Analiza solului** 104
Experiența nr. 97. Punerea în evidență a elementelor minerale din sol 105
Experiența nr. 98. Adsorbția elementelor minerale de către complexul coloidal al solului 105
Experiența nr. 99. Determinarea *p*H-ului solului 106

Scanned with OKEN Scanner

C. **Metode cantitative pentru determinarea elementelor minerale din plantă şi sol** 106

Experienţa nr. 100. Determinarea azotului total din plante şi sol prin metoda Kjeldahl . . . 106
Experienţa nr. 101. Determinarea azotului total din plante şi sol prin metoda colorimetrică (după L. L. Scetinina şi V. A. Butenko) . . . 110
Experienţa nr. 102. Determinarea acidului fosforic din plante şi sol . . . 110
Experienţa nr. 103. Determinarea potasiului din plante şi din sol . . . 113
Experienţa nr. 104. Determinarea calciului din plante şi din sol . . . 116

D. **Îngrăşămintele chimice** . . . 120

Experienţa nr. 105. Identificarea rapidă a principalelor îngrăşăminte minerale 120

E. **Culturi de plante** . . . 122

1. *Culturi de plante pe medii lichide* . . . 122

Experienţa nr. 106. Stabilirea unor elemente minerale indispensabile plantelor 122
Experienţa nr. 107. Rolul microelementelor bor şi mangan în viaţa plantelor 126
Experienţa nr. 108. Culturi de plante heterotrofe pe soluţii minerale nutritive 127

2. *Culturi de plante pe medii solide* . . . 128

Experienţa nr. 109. Studiul influenţei îngrăşămintelor N.P.K. asupra plantelor crescute pe pământ de grădină . . . 128
Experienţa nr. 110. Culturi de plante pe nisip cu adăugare de cenuşă . . . 130
Experienţa nr. 111. Culturi de alge verzi pe medii solide, cu amestec nutritiv complet şi în lipsa unor elemente . . . 130

F. **Absorbţia elementelor minerale de către plante** . . . 131

Experienţa nr. 112. Absorbţia ionului NH_4 . . . 131
Experienţa nr. 113. Determinarea absorbţiei ionului PO_4^{---} cu P^{32} . . . 132
Experienţa nr. 114. Absorbţia sărurilor minerale insolubile de către rădăcini . . . 133
Experienţa nr. 115. Absorbţia sărurilor minerale prin frunze şi prin părţile tinere ale plantelor . . . 134

G. **Microorganisme fixatoare de azot** . . . 135

Experienţa nr. 116. Punerea în evidenţă a bacteriilor din nodozităţi . . . 135
Experienţa nr. 117. Punerea în evidenţă a bacteriei *Clostridium pasteurianum* . . . 136
Experienţa nr. 118. Punerea în evidenţă a bacteriei *Azotobacter chroococcum* . . . 136
Experienţa nr. 119. Punerea în evidenţă a bacteriei *Azotobacter* în sol . . . 137
Bibliografie . . . 137

Cap. IV. **CĂILE DE DIFUZIUNE A GAZELOR ÎN PLANTE** . . . 139

Experienţa nr. 120. Difuziunea CO_2 prin pereţi poroşi . . . 139
Experienţa nr. 121. Difuziunea hidrogenului prin pereţi poroşi . . . 139
Experienţa nr. 122. Difuziunea gazelor prin frunze . . . 140

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 123. Numărarea stomatelor de pe o frunză 141
Experienţa nr. 124. Determinarea gradului de deschidere a stomatelor 142
Experienţa nr. 125. Observarea închiderii şi deschiderii stomatelor 144
Experienţa nr. 126. Difuziunea gazelor prin tulpinile plantelor 145
Experienţa nr. 127. Trecerea gazelor prin pereţi neporoşi (experienţa Bequerel) 146

Bibliografie 146

Cap. V. **FOTOSINTEZA** 148

1. *Metodele calitative pentru punerea în evidenţă a fotosintezei* 148

Experienţa nr. 128. Metoda bulelor 148
Experienţa nr. 129. Punerea în evidenţă a oxigenului eliminat în fotosinteză prin metoda Jan Ingehouz 149
Experienţa nr. 130. Punerea în evidenţă a oxigenului produs în fotosinteză prin metoda Engelmann 149
Experienţa nr. 131. Metoda cu indigocarmin pentru punerea în evidenţă a oxigenului rezultat în fotosinteză 150
Experienţa nr. 132. Observarea microscopică a granulelor de amidon din frunze 151
Experienţa nr. 133. Punerea în evidenţă a amidonului din frunze prin metoda J. Sachs 151
Experienţa nr. 134. Punerea în evidenţă a substanţelor proteice din frunze, rezultate în procesul fotosintezei 152

2. *Metode cantitative pentru determinarea intensităţii fotosintezei* 152

Experienţa nr. 135. Determinarea intensităţii fotosintezei după cantitatea de substanţă uscată asimilată (metoda jumătăţilor de frunză a lui J. Sachs) . . 152
Experienţa nr. 136. Determinarea intensităţii fotosintezei la plantele submerse prin metoda Winkler 153
Experienţa nr. 137. Determinarea intensităţii fotosintezei prin metoda L. A. Ivanov şi L. N. Kossovici 155
Experienţa nr. 138. Determinarea intensităţii fotosintezei prin metoda curentului de aer (după Krasnoselskaia — Ordoian şi Richter) 157
Experienţa nr. 139. Determinarea intensităţii fotosintezei prin metoda curentului de aer (după N. Sălăgeanu) 161
Experienţa nr. 140. Determinarea intensităţii fotosintezei la plantele submerse prin metoda manometrică Warburg 167
Experienţa nr. 141. Determinarea intensităţii fotosintezei la frunzele plantelor aeriene prin metoda manometrică (după N. Sălăgeanu). 169
Experienţa nr. 142. Determinarea intensităţii fotosintezei cu ajutorul izotopilor radioactivi 172

3. *Influenţa factorilor externi asupra fotosintezei* 174

Experienţa nr. 143. Influenţa intensităţii luminii asupra fotosintezei. 175
Experienţa nr. 144. Influenţa diferitelor radiaţii ale spectrului solar asupra intensităţii fotosintezei 175
Experienţa nr. 145. Necesitatea CO_2 în fotosinteză 177
Experienţa nr. 146. Influenţa temperaturii asupra fotosintezei 177
Experienţa nr. 147. Influenţa anestezicilor asupra intensităţii fotosintezei 177

Scanned with OKEN Scanner

4. *Studiul pigmenților clorofilieni* 178
Experiența nr. 148. Extragerea pigmenților din frunze 178
Experiența nr. 149. Proprietățile fizice și chimice ale pigmenților clorofilieni . . . 179
Experiența nr. 150. Separarea pigmenților clorofilieni 181
Experiența nr. 151. Demonstrarea necesității luminii în formarea clorofilei 183
Experiența nr. 152. Determinarea cantității de clorofilă din frunze (după J. D. Guthrie) 184
Experiența nr. 153. Separarea carotinei și xantofilei (după K. A. Timireazev) . . . 187
Experiența nr. 154. Obținerea cristalelor de carotină 187
Experiența nr. 155. Determinarea cantității de carotină din plante 188
Bibliografie 189

Cap. VI. **STUDIUL SUBSTANȚELOR ORGANICE ELABORATE DE PLANTE, TRANSFORMĂRILE ȘI CONDUCEREA LOR** 191

A. Punerea în evidență a substanțelor organice din plante 191

1. *Glucide (Hidrați de carbon)* 191

Experiența nr. 156. Extragerea și reacțiile de identificare a monozaharidelor . . . 191
Experiența nr. 157. Extragerea și reacțiile de identificare a dizaharidelor. 194
Experiența nr. 158. Separarea glucidelor prin metoda cromatografică pe hîrtie. . . 195
Experiența nr. 159. Hidroliza enzimatică a zaharozei 197
Experiența nr. 160. Dozarea glucidelor reducătoare 197
Experiența nr. 161. Dozarea zaharozei 201
Experiența nr. 162. Punerea în evidență a amidonului. Reacția cu iod 201
Experiența nr. 163. Separarea amidonului în amilopectină și amiloză. 202
Experiența nr. 164. Punerea în evidență a fosforului din amidon. 202
Experiența nr. 165. Hidroliza acidă a amidonului. 203
Experiența nr. 166. Hidroliza enzimatică a amidonului 204
Experiența nr. 167. Punerea în evidență a inulinei. 205
Experiența nr. 168. Punerea în evidență a celulozei 206
Experiența nr. 169. Punerea în evidență a ligninei 207
Experiența nr. 170. Punerea în evidență a gumelor vegetale. 208

2. *Proteine (Protide)* 209

Experiența nr. 171. Extragerea proteinelor. 209
Experiența nr. 172. Punerea în evidență și separarea proteinelor cu ajutorul reacțiilor de precipitare 210
Experiența nr. 173. Punerea în evidență a proteinelor cu ajutorul reacțiilor de culoare 212
Experiența nr. 174. Separarea aminoacizilor prin metoda cromatografică pe hîrtie 214
Experiența nr. 175. Descompunerea enzimatică a proteinelor 215
Experiența nr. 176. Determinarea azotului total după Kjeldahl. 216
Experiența nr. 177. Determinarea glutenului din făină 218

3. *Lipide (Gliceride)* 219

Experiența nr. 178. Punerea în evidență a lipidelor 219
Experiența nr. 179. Determinarea cantitativă a grăsimilor cu metoda extracției (Soxhlet) 220

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 180. Descompunerea enzimatică a grăsimilor 222
Experienţa nr. 181. Punerea în evidenţă a acizilor organici 223
Experienţa nr. 182. Determinarea acidităţii totale din plante 225
Experienţa nr. 183. Punerea în evidenţă a vitaminei C 226
Experienţa nr. 184. Determinarea vitaminei C cu metoda iodometrică 227
Experienţa nr. 185. Punerea în evidenţă a glucozidelor 228
Experienţa nr. 186. Punerea în evidenţă a alcaloizilor 235

B. **Circulaţia substanţelor organice în plante** 237

Experienţa nr. 187. Transportul asimilatelor din frunze 237
Experienţa nr. 188. Punerea în evidenţă a căilor de transport ale asimilatelor în tulpină prin metoda inelării 238

Bibliografie 239

Cap. VII. **RESPIRAŢIA ŞI FERMENTAŢIILE** 242

1. *Punerea în evidenţă a procesului de respiraţie* 242

Experienţa nr. 189. Metoda atmosferei confinate 242
Experienţa nr. 190. Metoda eudiometrică (metoda Garreau) 243
Experienţa nr. 191. Metoda Godlevski 243
Experienţa nr. 192. Metoda Fleury 244
Experienţa nr. 193. Metoda decolorării indigocarminului 244

2. *Studiul cantitativ al intensităţii respiraţiei* 244

Experienţa nr. 194. Metoda fixării CO_2 din curent de aer (metoda Pettenkoffer) . . 245
Experienţa nr. 195. Metoda absorbţiei CO_2 din atmosferă confinată (metoda Boysen-Jensen) 247
Experienţa nr. 196. Determinarea intensităţii respiraţiei plantelor acvatice prin metoda Winkler 248
Experienţa nr. 197. Determinarea intensităţii respiraţiei după volumul de O_2 consumat 248
Experienţa nr. 198. Determinarea intensităţii respiraţiei cu ajutorul aparatului Warburg (metoda manometrică) 250

3. *Coeficientul respirator* 251

Experienţa nr. 199. Determinarea coeficientului respirator cu aparatul Detmer 252
Experienţa nr. 200. Determinarea coeficientului respirator cu ajutorul instalaţiei Warburg 254

4. *Respiraţia intramoleculară* 255

Experienţa nr. 201. Punerea în evidenţă a respiraţiei intramoleculare la plantele superioare 255

5. *Fermentaţiile* 256

Experienţa nr. 202. Fermentaţia alcoolică 256
Experienţa nr. 203. Fermentaţia butirică 257
Experienţa nr. 204. Fermentaţia acetică 259
Experienţa nr. 205. Fermentaţia lactică 260

Scanned with OKEN Scanner

6. *Enzimele de respiraţie* 261

Experienţa nr. 206. Dehidrazele 261
Experienţa nr. 207. Oxidazele 263
Experienţa nr. 208. Peroxidaza 265
Experienţa nr. 209. Catalaza 267
Experienţa nr. 210. Determinarea intensităţii activităţii fermenţilor respiratori prin metoda gazometrică 268

7. *Emisiunea de căldură în procesul de respiraţie şi fermentaţie* 270

Experienţa nr. 211. Punerea în evidenţă a căldurii produse în respiraţie şi fermentaţie 270
Bibliografie 270

Cap. VIII. **CREŞTEREA** 272

A. **Germinaţia seminţelor** 272

1. *Capacitatea de germinaţie a seminţelor* 272

Experienţa nr. 212. Determinarea facultăţii şi energiei germinative 272
Experienţa nr. 213. Vitalitatea seminţelor 276
Experienţa nr. 214. Variaţia facultăţii germinative a seminţelor 279
Experienţa nr. 215. Activarea enzimelor în seminţele pe cale de germinaţie (Beyerinck, Klirkenberg) 283
Experienţa nr. 216. Mobilizarea rezervelor din sămînţă în cursul germinaţiei 284
Experienţa nr. 217. Cantitatea substanţelor de rezervă din sămînţă şi creşterea plantulei 286
Experienţa nr. 218. Intensificarea respiraţiei seminţelor în germinaţie 287

2. *Condiţiile mediului extern necesare germinaţiei seminţelor* 288

Experienţa nr. 219. Necesitatea apei, aerului şi căldurii pentru germinaţia seminţelor. Experienţa celor trei boabe de fasole (I. Small) 288
Experienţa nr. 220. Absorbţia apei în procesul de germinaţie 289
Experienţa nr. 221. Necesitatea oxigenului în procesul de germinaţie 294
Experienţa nr. 222. Temperatura de germinaţie a seminţelor 296

3. *Cauzele care împiedică germinaţia seminţelor şi metodele de stimulare a germinaţiei* 296

Experienţa nr. 223. Impermeabilitatea tegumentului seminal 297
Experienţa nr. 224. Influenţa valorii osmotice a mediului asupra absorbţiei apei în seminţe 298
Experienţa nr. 225. Substanţe inhibitoare ale germinaţiei 299
Experienţa nr. 226. Influenţa luminii asupra germinaţiei seminţelor 301
Experienţa nr. 227. Stimularea germinaţiei prin tratarea seminţelor cu temperaturi scăzute 302
Experienţa nr. 228. Stimularea germinaţiei prin tratarea seminţelor cu căldură . . 303

Scanned with OKEN Scanner

4. Germinația polenului 303

Experiența nr. 229. Germinația grăunciorilor de polen pe substrat artificial 303

B. **Creșterea** 304

1. *Creșterea meristematică și creșterea prin întindere (faza de diviziune și faza de întindere)* 304

Experiența nr. 230. Aflarea poziției zonelor de creștere la diferitele organe, prin metoda diviziunilor cu tuș 304

Experiența nr. 231. Creșterea inegală a diferitelor țesuturi dintr-un organ (tensiunea țesuturilor) 309

2. *Perioada mare a creșterii* 311

Experiența nr. 232. Reprezentarea grafică a mersului creșterii 311

3. *Forța exercitată de organele care cresc* 312

Experiența nr. 233. Forța mecanică exercitată de vîrful tulpinii și al rădăcinii în creștere 312

4. *Metode de măsurare a creșterii* 313

Experiența nr. 234. Măsurarea creșterii prin determinarea numărului de celule dintr-un mediu de suspensie 314

Experiența nr. 235. Măsurarea creșterii prin determinarea dimensiunii celulelor cu microscopul 316

Experiența nr. 236. Măsurarea creșterii prin determinarea volumului 318

Experiența nr. 237. Evaluarea creșterii prin măsurări liniare și după sporul de substanță 318

Experiența nr. 238. Măsurarea creșterii cu microscopul orizontal 319

Experiența nr. 239. Măsurarea creșterii cu auxanometrele 322

5. *Substanțele de creștere* 324

Experiența nr. 240. Determinarea concentrației auxinei prin testul *Avena* 325

Experiența nr. 241. Determinarea concentrației auxinei prin testul *Pisum* 329

Experiența nr. 242. Punerea în evidență a „biosului" prin testul *Saccharomyces* (după K. Rippel) 330

Experiența nr. 243. Punerea în evidență a hormonilor traumatici prin testul *Phaseolus* (după Wehnelt) 331

Experiența nr. 244. Acțiunea auxinei asupra creșterii tulpinii și rădăcinii 332

Experiența nr. 245. Efectul auxinelor asupra rizogenezei 333

Experiența nr. 246. Acțiunea substanței de creștere *2, 4-D* (acid *2, 4* — diclorfenoxiacetic) asupra mono- și dicotiledonatelor 334

Experiența nr. 247. Producerea fructelor partenocarpice de tomate în urma tratamentului cu *2, 4-D* (acid *2, 4* — diclorfenoxiacetic) 335

6. *Regenerare, polaritate, corelații* 335

Experiența nr. 248. Regenerarea la rădăcini, tulpini și frunze 335

Experiența nr. 249. Polaritatea 337

Experiența nr. 250. Corelații. Experiență pentru dovedirea dominanței apicale . . 338

Scanned with OKEN Scanner

7. *Influenţa factorilor mediului ambiant asupra creşterii* 339

Experienţa nr. 251. Influenţa temperaturii asupra creşterii 340
Experienţa nr. 252. Influenţa luminii asupra creşterii. Fenomenul etiolării . . . 340
Experienţa nr. 253. Influenţa apei asupra creşterii 343
Experienţa nr. 254. Influenţa concentraţiei soluţiei din sol asupra creşterii 343
Experienţa nr. 255. Influenţa aplicării îngrăşămintelor asupra creşterii (V. A. Tetiurev) 344
Experienţa nr. 256. Efectul aprovizionării cu cantităţi diferite de azot asupra creşterii (K. Paech — W. Simonis). 345
Experienţa nr. 257. Influenţa etilenului asupra creşterii (H. Molisch) 346

8. *Starea de repaus* 346

Experienţa nr. 258. Stimularea germinaţiei tuberculilor de cartof 346
Experienţa nr. 259. Întreruperea repausului mugurilor de pe ramurile lemnoase . . 347
Bibliografie 348

Cap. IX. **DEZVOLTAREA PLANTELOR** 350

Experienţa nr. 260. Stadiul de iarovizare. Iarovizarea grîului de toamnă 350
Experienţa nr. 261. Stadiul de lumină 351
Experienţa nr. 262. Stabilirea reacţiei la lumină la grîul Lutescens 62 353
Bibliografie 354

Cap. X. **MIŞCĂRILE PLANTELOR** 355

1. *Mişcări fizice* 355
Experienţa nr. 263. Mişcări prin imbibiţie 355
Experienţa nr. 264. Mişcări prin coeziune 359
2. *Mişcări intracelulare* 360
Experienţa nr. 265, Curenţii protoplasmatici 360
Experienţa nr. 266. Mişcarea fototactică a cloroplastelor 362
3. *Taxii* 362
Experienţa nr. 267. Fototaxia algelor 363
Experienţa nr. 268. Aerotaxia bacteriilor 363
Experienţa nr. 269. Mişcarea spirililor 364
4. *Tropisme* 364
Experienţa nr. 270. Geotropismul 364
Experienţa nr. 271. Fototropismul 372
Experienţa nr. 272. Chimiotropismul rădăcinilor 374
Experienţa nr. 273. Hidrotropismul 376
5. *Nastii* 378
Experienţa nr. 274. Seismonastia 378
Experienţa nr. 275. Termo- şi fotonastia 380

6. *Mişcări nictinastice* 380

Experienţa nr. 276. Poziţia de veghe şi de somn 380
7. *Nutaţii* 381

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa nr. 277. Mişcarea de nutaţie a vîrfului tulpinii 381
Bibiliografie 383

Cap. XI. **ÎNMULŢIREA VEGETATIVĂ A PLANTELOR** 384

Experienţa nr. 278. Înmulţirea plantelor prin butaşi 384
Experienţa nr. 279. Înmulţirea plantelor prin marcotaj 386
Experienţa nr. 280. Înmulţirea plantelor prin altoire 386
Bibliografie 388

Anexa I. *Instalaţia Warburg* 389

Anexa II. *Refractometria* 399

Anexa III. *Reţetele de preparare a reactivilor* 403

Scanned with OKEN Scanner

ERATA

Pagina	Rîndul	În loc de	Se va citi
69	19 de jos	stabilizarea	stabilirea
127	9 de jos	sporulare	sporulate
141	fig. 86	—	figura se inversează
154	9 de sus	4 KCl_2	4 KCl
227	5 de jos	3 KI	5 KI
237	16 de jos	frunza și planta	frunza pe plantă
251	3 de jos	$\frac{6}{6} - 1$	$\frac{6}{6} = 1$
303	22 de sus	germinate	germinative
306	fig. 157 II	—	se va adăuga o diviziune în dreptul cifrei 1 la 1 mm de vîrf
370	fig. 210	—	în eprubetă se găsește un bob de mazăre, germinat, cu radicula izodiametrică perfect orizontală

Scanned with OKEN Scanner